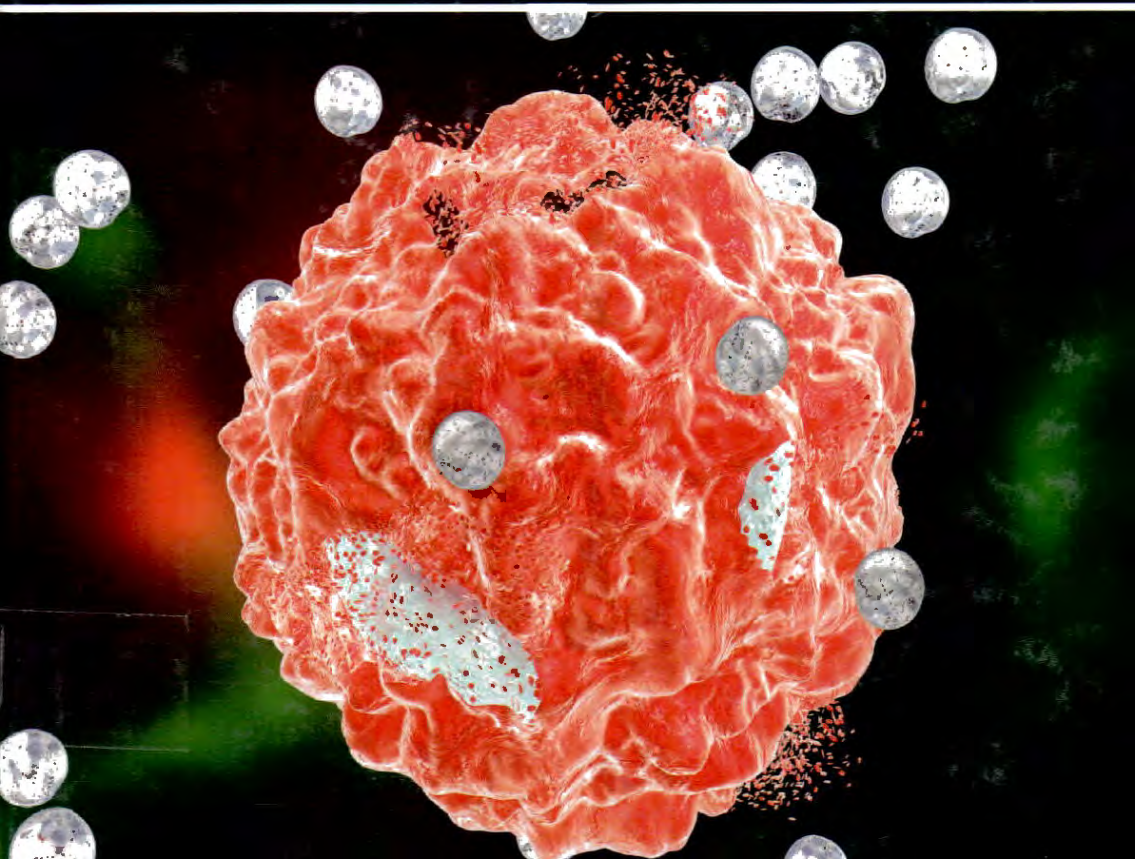
NATIONAL GEOGRAPHIC

LA NANOMEDICINA

La revolución de la medicina a escala molecular



La capacidad que ofrece la nanotecnología de manipular a escala molecular y atómica está llamada a marcar un antes y un después en la práctica de la medicina en sus tres áreas básicas: el diagnóstico, el tratamiento y la regeneración. Así, la nanomedicina está permitiendo ya obtener información del organismo enfermo en tiempo real gracias a nanobiosensores incorporados al cuerpo. Más allá del diagnóstico, esta tecnología promete ofrecer también el mejor tratamiento para restablecer la salud gracias a nanovehículos que portarán los fármacos al lugar y en la dosis requerida, lo que aumentará su efectividad. Igualmente, permitirá recuperar la correcta funcionalidad de los órganos o tejidos dañados. El desarrollo, en último término, de nanobots presenta un potencial increíble que podría, incluso, controlar el envejecimiento.

Daniel Closa es biólogo, escritor y divulgador científico.

LA NANOMEDICINA

La revolución de la medicina a escala molecular

SUMARIO

	Introducción	7
01	Un mundo en miniatura para una nueva medicina	13
02	Afinar el diagnóstico	37
03	Un nanoejército para mejorar nuestra salud	59
04	Potenciando la regeneración	81
05	El futuro de la medicina: menos será más	109
	Lecturas recomendadas	135
	Índice	137

INTRODUCCIÓN

El arte, o la ciencia, de la medicina no ha dejado de evolucionar desde sus más remotos inicios, pues mantener la salud, o recuperarla cuando la perdemos, ha sido siempre una de las principales prioridades de los seres humanos. Resulta evidente que el incremento en la esperanza de vida y la mejora del estado de salud general de la población han ido de la mano de los avances científicos y tecnológicos. Una confluencia que ha aumentado en los últimos años gracias al desarrollo de la nanotecnología, un nuevo conjunto de tecnologías que operan a escala atómica y que aplicadas al campo de la medicina han dado lugar a la nanomedicina. Con ella, la capacidad de intervenir a escala tan pequeña abre la posibilidad, por primera vez, de tratar las células en lugar de actuar sobre los tejidos, de transportar los fármacos de manera individualizada a la zona exacta donde queremos que ejerzan su efecto en lugar de dejarlos actuar sobre todo el organismo y de introducir el laboratorio en el interior del cuerpo en lugar de tener que obtener muestras de sangre o tejido para analizarlas. Este cambio va a representar un antes y un después en la historia de la medicina porque por primera vez va a permitir in-

tervenir allí donde la mayoría de las enfermedades tienen su origen. Alteraciones en genes, modificaciones en proteínas o cambios en los elementos que constituyen las estructuras celulares son causas frecuentes de enfermedades que se manifestarán de diferentes maneras en función del tipo de moléculas implicadas. La consecuencia será una mejora de la calidad de vida de los seres humanos, no solo gracias a la innovadora forma de combatir la enfermedad, sino también a la posibilidad que brinda esta tecnología de una medicina personalizada a distancia en el propio hogar del paciente.

La manera de ejercer la medicina, por tanto, se verá profundamente modificada, ya que se deberá operar con nuevas herramientas adaptadas a la escala atómica, que se rige por reglas diferentes a las que estamos habituados. Es un error pensar que se trata, simplemente, de disponer de instrumentos más pequeños pero que actúan de la misma manera. Las leyes de la física que rigen a escala molecular son diferentes de las que modulan el comportamiento de las cosas a escala macroscópica. A escala molecular el mundo ya no se percibe como un continuo a nuestro alrededor y basta con imaginar lo que nos sucedería al mover un objeto del tamaño de unos pocos átomos a través del agua. Lo que detectaríamos no será un fluido que nos envuelve, sino moléculas individuales de agua que nos golpean interminablemente. Cuando encontrásemos una superficie, lo más importante que deberíamos tener en cuenta serían las cargas eléctricas que presente, ya que de ello dependerá el quedar atrapado o el salir repelido. Se trata de unos detalles del mundo nanométrico que ya intuyeron los primeros investigadores que se atrevieron a soñar con estas posibilidades, como el físico estadounidense Richard Feynman. Estas peculiaridades, que podían parecer obstáculos que impedirían el desarrollo práctico de la nanomedicina, se han aprovechado para diseñar sistemas de transporte de medicamentos, para identificar células individuales o para conseguir que zonas de tejido dañado queden ocultas al sistema inmunitario.

Así, el conocimiento y control de estas herramientas puede dar lugar a una auténtica revolución en las tres áreas de la medicina: el diagnóstico, el tratamiento y la regeneración. Para afinar el diagnóstico, se está trabajando en el diseño de sistemas equivalentes a un laboratorio analítico completo que quepa en la palma de la mano. Yendo un paso más allá, se podrán instalar en el cuerpo detectores de tamaño molecular que analicen determinados parámetros y nos mantengan informados de cualquier cambio en nuestro metabolismo. De esta manera, los médicos podrán disponer de «ojos» y «oídos» que monitoricen constantemente nuestro estado de salud. La capacidad de las nanosondas nos permitirá llevar un paso más allá los sistemas actuales de obtención de imágenes del interior del cuerpo, permitiendo detectar tumores cada vez más pequeños, células dañadas cada vez más escondidas y cambios fisiológicos cada vez más sutiles. La nanomedicina puede sacar partido de las sorprendentes propiedades cuánticas de algunos materiales con los que se pueden detectar, marcar y hacer brillar células individuales, lo que abrirá la vía a identificar una única célula cancerosa, con el potencial para generar un futuro tumor, oculta en un fondo de células sanas.

Por supuesto, identificar y conocer la enfermedad tan solo es el primer paso en el ejercicio de la medicina. A continuación hay que tomar las medidas oportunas para restablecer el funcionamiento correcto del organismo. En este proceso es donde las opciones ofrecidas por la nanotecnología promueven los cambios más destacados con respecto a la manera habitual de actuar. Con el uso de las nanoherramientas, la precisión de las actuaciones médicas alcanza unos niveles inimaginables hasta hace muy poco tiempo. Diseñando con precisión el tipo de estructuras moleculares que hay que sintetizar podemos, por ejemplo, disponer de sistemas para «empaquetar» los fármacos y dirigirlos con precisión hacia el tejido dañado, el vaso sanguíneo obstruido o el tumor que queremos destruir. Esto permite concentrar los efectos farmacológicos exclu-

sivamente donde se necesitan, sin afectar al resto del organismo y, en consecuencia, con unos efectos secundarios mucho menores. También se pueden aprovechar las características particulares del mundo nanométrico para actuar de maneras totalmente diferentes a las que estamos habituados. Por ejemplo, ya se están fabricando partículas metálicas tan pequeñas que responden a campos magnéticos vibrando y generando una cantidad de calor que se puede controlar y usar, por ejemplo, para destruir células tumorales mediante una técnica denominada hipertermia. Por otra parte, la combinación de la nanotecnología con otras ramas emergentes de la ciencia, como la genómica, permite establecer mecanismos de terapia a nivel de los propios genes. Reparar enfermedades genéticas requiere introducir en las células las versiones corregidas de los genes defectuosos. En la práctica esto implica diseñar sistemas que permitan transportar con seguridad fragmentos específicos de ADN (la molécula que contiene la información genética) hasta las células adecuadas y conseguir que este material genético atraviese la membrana y alcance el núcleo. Para conseguir esto se están desarrollando sistemas basados en los nanotubos de carbono, unas estructuras a las que se puede unir el ADN y que estamos aprendiendo a guiar hasta su destino celular.

Las estrategias terapéuticas en la nanomedicina también tienen aplicación en la última etapa del proceso de sanación: la reparación de los tejidos tras la eliminación del proceso patológico. La destrucción de la infección, la eliminación del tumor o la disolución de los trombos en los vasos sanguíneos requieren un proceso posterior de reparación de las estructuras dañadas. El cuerpo dispone de mecanismos naturales de reparación, pero en muchas ocasiones no se consigue restablecer la normalidad en su totalidad. Por otra parte, existen enfermedades degenerativas en las que la terapia ha de consistir en la reparación de las estructuras dañadas. En algunas situaciones, como en el caso de las enfermedades neurodegenerativas, las estructuras afectadas pueden ser extremada-

mente delicadas. Restablecer las conexiones nerviosas dañadas por enfermedades como el Alzheimer o los daños cerebrales causados por trombos o hemorragias intracraneales es aún un sueño, pero ya se empiezan a vislumbrar estrategias para guiar el crecimiento de fibras nerviosas de manera que conexiones perdidas se puedan restablecer, al menos parcialmente. Algunos nanomateriales se pueden usar como andamios que condicionan el crecimiento de células en fase de regenerar el tejido, dirigiéndolas hacia determinadas estructuras y previniendo crecimientos incontrolados que puedan condicionar la funcionalidad de los órganos en reparación. En otras ocasiones, interesa controlar los mecanismos de defensa del cuerpo, como la inflamación o la inmunidad, para permitir que el tejido en fase de regeneración pueda crecer sin ser atacado por las propias defensas del organismo. Esto se puede conseguir recubriéndolos con nanomateriales que presenten superficies diseñadas específicamente para evitar la unión de estas células.

En pocos años podremos disponer de robots moleculares que, inyectados en la sangre, podrán atacar las infecciones con eficacia similar a la del sistema inmunitario, o fabricar transportadores de oxígeno que suplan las funciones de los glóbulos rojos, haciendo innecesarias las transfusiones de sangre en casos de hemorragias o de determinadas intervenciones quirúrgicas. Hoy en día estamos aprendiendo a fabricar los componentes esenciales de esas máquinas moleculares. Muy pronto entraremos en la etapa de ensamblar estos componentes para fabricar los nanorrobots (o nanobots) que se requieran en cada ocasión: máquinas que eliminen toxinas de la circulación sanguínea, nanobots que reparen los vasos dañados o sistemas nanométricos para impulsar y guiar el crecimiento celular en la reparación de tejidos. Cuando lleguemos a este punto será evidente la capacidad de ir un paso más allá de la «simple» reparación del organismo, dado que dispondremos de la capacidad para optimizar sus funciones más allá del óptimo fisiológico. Los nanorrobots podrán suplir y mejorar la capacidad de los sistemas de re-

generación del sistema inmunitario y del metabolismo en general, acercándonos así al sueño de la inmortalidad.

Es difícil establecer los límites de la nanomedicina, ya que aún estamos en las primeras etapas de esta tecnología. La capacidad para modular, reparar e intervenir en estructuras biológicas a una escala tan reducida permitirá una precisión que hará que, finalmente, podamos sanar el cuerpo de manera efectiva y con el mínimo de daños colaterales. Los cirujanos moleculares con los que algunos visionarios soñaron en una ocasión pronto serán una realidad y cambiarán radicalmente la manera de ejercer la medicina del futuro.

01

UN MUNDO EN MINIATURA PARA UNA NUEVA MEDICINA

En el momento en el que se dispuso de la capacidad de manipular los átomos y las moléculas a nivel individual, se hizo evidente el inmenso potencial que la nanotecnología tenía en medicina. Desde entonces se han desarrollado sistemas para transportar fármacos, cubrir estructuras, bloquear células, manipular genes o señalar tumores a una escala tan reducida que ha obligado a revisar cómo usamos las leyes de la física.

Unos pitidos despiertan a Carlos. ¿Suena el despertador? No, es el aviso de que ha llegado un mensaje de texto a su móvil. Carlos, todavía medio dormido, alarga la mano para alcanzarlo. «La eficacia del tratamiento ya no es óptima. Es necesario modificarlo. Cita en el hospital a las 13h. Liberados 10 miligramos de morfina para reducir el dolor», lee en la app *Treat&Check* (tratar y controlar). No es un mensaje escrito por un médico. O ¿en realidad sí? Todo depende de lo que entendamos por «médico» de aquí a unos años.

Carlos tiene 47 años y, desde hace diez meses, recibe tratamiento para combatir un cáncer de colon. En su torrente sanguíneo, un nanosensor patrulla para analizar cada ocho horas la presencia de ADN tumoral. Este ADN es el material que las células de su tumor expulsan al torrente sanguíneo. Son pequeños fragmentos del material genético del cáncer, una fuente de información muy valiosa, pues los cambios en ese ADN tumoral permiten saber si el tratamiento está siendo eficaz o si, por el contrario, el tumor avanza. Si el cáncer empeora o mejora, el material genético cambia. El

nanosensor analiza ese ADN del tumor y envía la información al móvil de Carlos y de ahí al hospital, donde un supercomputador es capaz de manejar *big data* (grandes cantidades de datos) y analizar la información de Carlos y la de otros miles de pacientes en pocos segundos. Además, el supercomputador cruza los datos que recibe de Carlos (su ADN tumoral, pero también su presión arterial, sus niveles de glucosa, cuántas horas ha dormido...) con las bases de datos de los tratamientos que podrían ser adecuados para él. Todo ello para responder, cada ocho horas, a las siguientes preguntas: ¿está recibiendo Carlos el tratamiento adecuado?, ¿debería ajustarse la dosis?, ¿cómo se pueden reducir los efectos secundarios?

En este caso, además, el nanosensor ha detectado un aumento del dolor en Carlos, uno de los síntomas más habituales en un tratamiento oncológico. Y el supercomputador ha enviado la orden para que otro nanodispositivo que también circula por el torrente sanguíneo del paciente libere la cantidad de morfina adecuada y en el momento oportuno para que la dosis sea tan eficaz como segura.

Carlos ya no tiene que llamar a su centro médico para concertar una cita. Tampoco necesita hacerlo a través de internet. Y, tras sus visitas, el médico (humano) ya no le programa para dentro de uno, dos o tres meses, es decir, en un plazo fijo de tiempo. Carlos irá al médico cuando sea necesario. Mientras, el supercomputador cuida de él. El nanosensor analiza en tiempo real la evolución de su enfermedad y otro nanodispositivo libera fármacos para mitigar los efectos secundarios del tratamiento. El nanosensor envía información al móvil de Carlos, que a su vez la envía al hospital, donde el ordenador la procesa para remitir un breve informe al médico, que ya conocerá perfectamente el estado de su paciente cuando este llegue.

¿Una fantasía? Por poco tiempo. Actualmente ya es posible introducir y dirigir nanosondas metálicas y/o magnéticas a lugares determinados del cuerpo y liberar allí un fármaco o destruir un tejido

dañado o detectar una célula maligna. También es posible realizar análisis genéticos personalizados, cirugía endoscópica dirigida telemáticamente y trasplantes de órganos. Además, disponemos de un arsenal farmacológico inimaginable hace pocas décadas. Todos estos avances han contribuido a mejorar nuestra longevidad e incluso a plantearnos sus límites. Si hoy podemos vivir más y en mejores condiciones que ninguna otra generación anterior es gracias a un principio muy sencillo: la aplicación de los últimos avances tecnológicos, de cualquier rama del conocimiento, al ejercicio de la medicina. Pensemos, por ejemplo, en cómo los avances en metalurgia han sido aprovechados para disponer de aleaciones más resistentes con las que fabricar prótesis, o en cómo el progreso de la química ha permitido modificar moléculas obtenidas de la naturaleza para potenciar sus efectos beneficiosos o reducir sus efectos adversos. Con los aceleradores de partículas se descubrió la manera de fabricar antimateria y esto se aprovechó para diseñar nuevas técnicas de imagen basadas en la emisión de positrones en el interior del cuerpo. Hoy en día, estas sustancias radiactivas se introducen de forma endovenosa y permiten observar el funcionamiento de órganos y tejidos, algo muy útil sobre todo en la investigación contra el cáncer.

EL NACIMIENTO DE LA NANOTECNOLOGÍA

A la luz de esta tendencia era fácil prever que en el momento en el que aprendiéramos la manera de manipular directamente los átomos para fabricar estructuras de tamaño molecular, lo que conocemos como «nanotecnología», se aprovecharía el potencial de estas nuevas herramientas para ir un paso más allá en nuestra capacidad para sanarnos. Y este momento tuvo su punto de partida en una fecha muy precisa: el 29 de diciembre de 1959, cuando el eminente físico estadounidense Richard Feynman pronunció una conferencia organizada por la Sociedad Americana de Física en el Institu-

to de Tecnología de California. La tituló *There's Plenty of Room at the Bottom* («En el fondo hay espacio de sobra») y en ella especuló con la posibilidad de manipular los átomos directamente y con las posibilidades que esta capacidad nos ofrecería. Aunque en aquellos momentos la idea de miniaturizar las máquinas hasta el nivel atómico era aún una fantasía, Feynman puso el énfasis en que no había ninguna ley física conocida que lo impidiera:

> Quisiera describir un campo en el que poco ha sido hecho, pero en el que, en principio, podrían hacerse muchísimas cosas [...]. Aun más, lo importante es que tendría un número enorme de aplicaciones técnicas. De lo que quiero hablar es del problema de manipular y controlar cosas en una escala pequeña. Tan pronto como menciono esto, la gente me habla acerca de miniaturización, y cuánto ha progresado hoy [...] Pero eso no es nada: ese es el paso más primitivo y vacilante en la dirección que intento discutir. Es un mundo sorprendentemente pequeño que está debajo. En el año 2000, cuando miren hacia atrás a este año, se preguntarán por qué no fue hasta el año 1960 que alguien comenzó seriamente a moverse en esta dirección.

Las posibilidades de lo que posteriormente se conocería como nanotecnología parecían infinitas, aunque no era su aplicación práctica lo que más motivaba a Feynman. A pesar de la evidente utilidad que podría tener en múltiples campos del conocimiento y de la tecnología, lo más interesante desde su punto de vista era superar el reto de conseguir manipular la materia a escala atómica. No obstante, uno de los ejemplos que planteó en la citada conferencia fue la primera referencia a la nanomedicina. Feynman explicó que un amigo suyo sugería una posibilidad muy interesante para máquinas relativamente pequeñas. Una idea que Feynman calificó de «salvaje» y que, literalmente, consistía en que en cirugía se pudiera «ingerir» al cirujano. Es decir, colocar a un cirujano mecánico en la circulación sanguínea del paciente para que alcanzara el interior de su corazón

> RICHARD FEYNMAN, UN VISIONARIO DE LA FÍSICA

— Feynman en 1986, cuando formaba parte de la Comisión Challenger.

Si hay un científico que pueda ser considerado uno de los precursores de la nanotecnología y, con ella, de la nanomedicina, ese es el físico teórico estadounidense Richard Phillips Feynman (1918-1988). No obstante, reducir su aportación a la ciencia únicamente a este campo es hacer poca justicia a una personalidad polifacética e inquieta, capaz de ver más allá de las ecuaciones matemáticas que desarrollaba e intuir todas sus posibilidades teóricas y prácticas. Tras obtener el doctorado en Princeton en 1942, Feynman participó en el proyecto Manhattan para el desarrollo de la primera bomba atómica. Una vez acabada la Segunda Guerra Mundial, se dedicó a estudiar la electrodinámica cuántica, labor que le valió el Premio Nobel de Física en 1965. Una de sus aportaciones en ese ámbito son unos diagramas que ideó para describir el comportamiento de las partículas subatómicas y que, bautizados con su nombre, todavía hoy son ampliamente utilizados por los físicos. Ya al final de su vida, en 1986, formó parte del comité que investigó el accidente del transbordador espacial *Challenger*. Pero lo que hizo más famoso a Richard Feynman fue su capacidad como divulgador de la ciencia, evidenciada en libros como *¿Está usted de broma, Sr. Feynman?*, de1985. Con todo ello presente, no es de extrañar que Feynman fuese uno de los primeros en imaginar las posibilidades de la manipulación de los materiales a escala nanométrica.

y «mirara» alrededor. De este modo, podría descubrir la válvula dañada y repararla con herramientas también minúsculas. Asimismo, otras «pequeñas máquinas» podrían ser incorporadas permanentemente en el cuerpo para asistir a algún órgano que funcionara inadecuadamente.

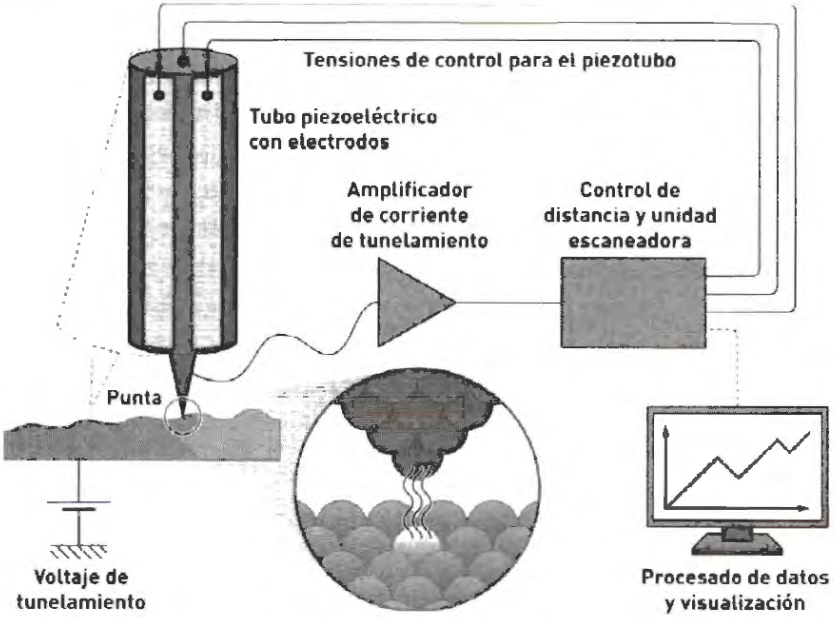
> De lo que quiero hablar es del problema de manipular y controlar cosas a una escala pequeña.
>
> RICHARD FEYNMAN

Para la comunidad científica, esa conferencia tuvo importantes repercusiones, pues lejos de quedarse en el ámbito especulativo se tradujo en un reto en toda regla. El mismo Feynman la concluyó ofreciendo dos premios de mil dólares: uno para quien fuera capaz de escribir un texto reducido 25 000 veces, de manera que pudiera ser leído en un microscopio electrónico; otro para el que fabricara un motor eléctrico rotativo de 1/64 de pulgada cúbica que pudiera ser controlado desde el exterior.

El segundo de esos premios tuvo ganador tan solo un año después de la conferencia: en noviembre de 1960, un ingeniero eléctrico estadounidense llamado William McLellan consiguió construir un motor del tamaño requerido y que generaba la millonésima parte de un caballo de fuerza. Para el primer reto, en cambio, fue necesario esperar hasta 1986, cuando Tom Newman, un estudiante de doctorado de la Universidad de Stanford, escribió la primera página de la novela de Charles Dickens *Historia de dos ciudades* a escala 1/25 000 usando un haz de electrones sobre la cabeza de un alfiler. El reto lanzado por Feynman había obtenido respuesta y la nanotecnología abría las puertas a un nuevo concepto para resolver problemas tecnológicos.

Al calor del incipiente interés por la nanotecnología, en la década de 1980 aparecieron los primeros trabajos que ligaban procesos bioquímicos con nanotecnológicos, dando origen así a la nanobiotecnología. Fue Kim Eric Drexler quien puso los cimientos de esta área al polarizar los potenciales de la tecnología molecular y apun-

Fig. 1



Esquema de microscopio de efecto túnel, una herramienta que, a diferencia de los microscopios electrónicos, permite visualizar la materia a nivel atómico, así como manipular átomos al modo que pronosticaba el físico Richard Feynman.

tar así a la posibilidad de reproducir mecánicamente lo que las células controlan biológicamente. Un camino este rubricado en 2016 con la concesión del Premio Nobel de Química al francés Jean-Pierre Sauvage, el escocés sir J. Fraser Stoddart y el holandés Bernard L. Feringa por, en palabras del comité Nobel, su contribución al «diseño y desarrollo de máquinas moleculares».

La tecnología necesaria para obtener, de manera eficiente, las estructuras moleculares que se precisaban para trabajar a escala nano llegó en 1981 con el «microscopio de efecto túnel» (fig. 1), un instrumento que permite identificar átomos individuales. Su funcionamiento, completamente diferente al de los microscopios habituales,

se basa en hacer pasar sobre la muestra que se pretende observar una punta tan afilada que consta de un solo átomo en el extremo. Si la punta está lo suficientemente cerca de los átomos de la superficie de la muestra, interacciona con sus electrones y se genera una pequeña corriente. Desplazando la punta y midiendo los cambios en la corriente, se puede «dibujar» el perfil de los átomos individuales de la muestra.

Fue un desarrollo extraordinario. Pero los científicos consiguieron ir un paso más allá cuando se dieron cuenta de que si en lugar de limitarse a medir la corriente pasaban a controlarla, la misma punta permitía capturar y depositar los átomos a voluntad. Es decir, no solo se obtenía una imagen de los átomos, sino que estos también se podían controlar. Con esta técnica se consiguió manipular átomos individuales por primera vez, un logro escenificado de manera incontestable en 1989 cuando este instrumento se usó para desplazar 35 átomos de xenón y depositarlos sobre una superficie de modo que recrearan el logo de IBM.

Aquello fue una proeza casi artesanal que no tardó en quedar superada por los avances que tuvieron lugar posteriormente. Ya se podía diseñar con precisión la posición de cada átomo en estructuras moleculares, pero para generalizar sus múltiples aplicaciones en diferentes campos, como la industria, las telecomunicaciones o la medicina, se requería la fabricación a gran escala, una situación que tuvo su eclosión en la última década del siglo XX. A partir de este momento, el desarrollo de la nanotecnología no ha dejado de crecer.

EL MUNDO A ESCALA NANOMÉTRICA

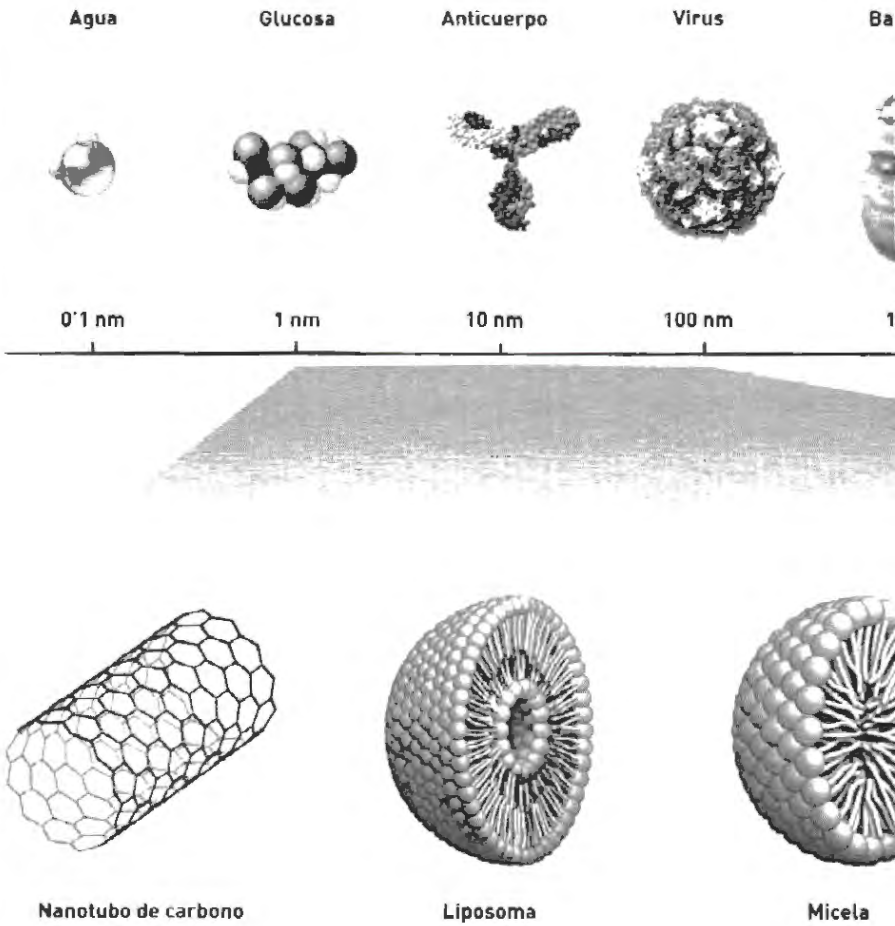
La posibilidad de disponer de instrumentos de tamaño molecular despertó el inmediato interés de muchos investigadores del campo de la medicina. Pero, cuando hablamos de escala nano, ¿a qué nos referimos concretamente? El ojo humano puede discriminar dos puntos separados por una décima de milímetro. Más allá de

ese tamaño ya necesitamos lupas o microscopios para ver objetos de tamaño micrométrico y submicrométrico. El prefijo «micro-» indica que nos referimos a la milésima parte de un milímetro y aunque el nombre correcto es micrómetro, suele usarse el término micra para referirse a este tamaño. Un glóbulo rojo de la sangre mide entre cinco y siete micras, una célula del hígado más de veinte micras y una bacteria puede oscilar entre media micra y cuatro micras. Son tamaños muy pequeños, pero mucho mayores que los valores de trabajo de la nanotecnología: los nanómetros (nm), 1000 veces más pequeños que los micrómetros y un millón de veces más pequeños que los milímetros. La nanotecnología, en concreto, tiene su rango de acción entre 1 y 100 nm.

Pero si reducir el campo de actuación hasta el tamaño molecular es una proeza tecnológica, los retos no acaban aquí. Trabajar a nivel nano implica mucho más que un simple cambio de escala, pues en ese entorno cercano a las dimensiones atómicas prevalecen las leyes de la física cuántica, los procesos mecánicos y moleculares se ven alterados por las interacciones moleculares y predominan las superficies frente a los volúmenes. En relación a este aspecto, si analizamos lo que sucede a cualquier objeto que doble su tamaño (fig. 2), observaremos que el volumen crece elevado al cubo, mientras que su superficie solo crece elevándose al cuadrado. Esto implica que aumentarán proporcionalmente mucho más los elementos que dependen del volumen, como el peso o su contenido, si los comparamos con otros que se relacionan con la superficie, como la capacidad de sostener otros objetos o de eliminar el calor. Una consecuencia bien conocida de este fenómeno sobre los seres vivos es el de las patas de los elefantes y de las moscas. Basta comparar la forma del cuerpo de una mosca, de un ratón y de un elefante para darnos cuenta de que proporcionalmente las patas van ganando grosor a medida que el animal crece en tamaño. Cada vez se necesita una pata mayor para sustentar un volumen que crece más que la superficie de sustentación. El caso

> EL UNIVERSO DE LO MÍNIMO

Si se tiene en cuenta que 1 metro equivale a 1 000 milímetros, que 1 milímetro son 1 000 micras y que 1 micra son 1 000 nanómetros, es posible llegar a entender lo pequeño, lo mínimo, que es un nanómetro y, por tanto, la dificultad de trabajar a esa escala. En la actualidad, la miniaturización lograda por la tecnología ha alcanzado cotas tan espectaculares



que igualan a algunas de las estructuras más diminutas existentes en la naturaleza. Es lo que puede verse en esta imagen, que muestra en su parte superior una serie de elementos que van de lo métrico a lo micrométrico y luego a lo nanométrico; en la inferior se aprecia una serie de estructuras de rango nanométrico empleadas en nanomedicina.

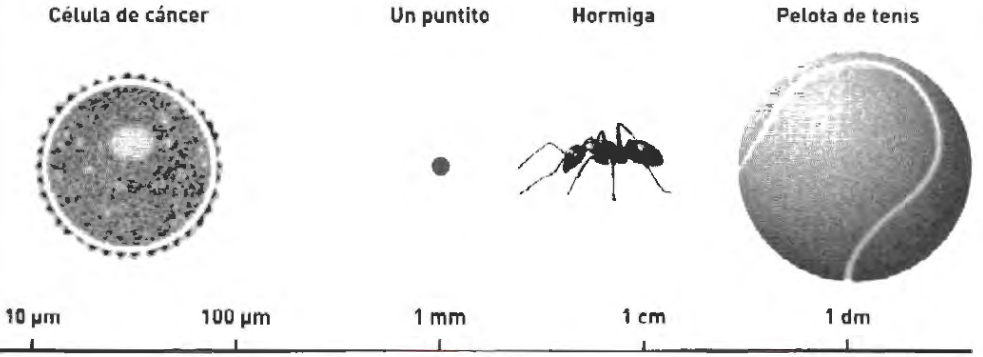
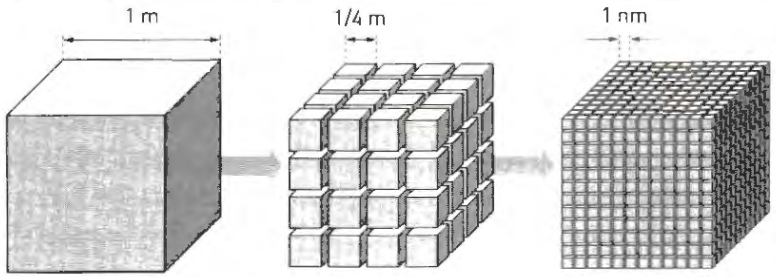


Fig. 2



Ejemplo de aumento espectacular de área de superficie al cortar un cubo en cubitos más pequeños. Sin que varíe el volumen total, se puede pasar de 6 m^2 a 6 000 millones de m^2.

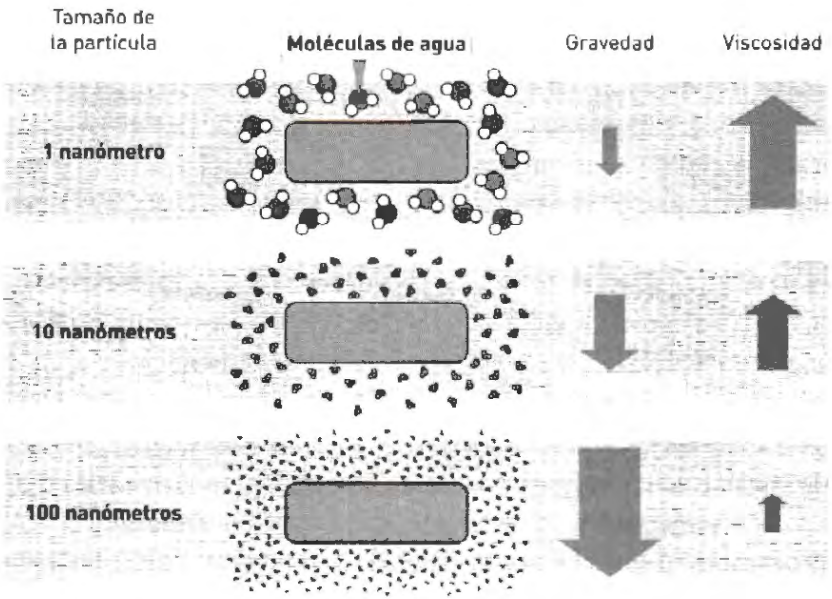
es que esto mismo ocurre al reducir el tamaño de cualquier cosa que imaginemos. Y, si la reducción la llevamos hasta la escala nanométrica, los efectos resultan especialmente notables.

Esta característica tiene una gran importancia, ya que fenómenos como la transmisión de calor o de electricidad dependen mucho de estas proporciones. Cuando la superficie de un objeto empieza a calentarse, el calor se va transmitiendo hacia el interior, generándose un gradiente, con el máximo de temperatura en la superficie y el mínimo en el centro del objeto. Cuanto menor sea la distancia entre la superficie y el centro, más rápidamente se llegará a un equilibrio. En cambio, si la distancia es considerable, el núcleo del objeto tardará mucho en calentarse. Puesto que en el caso de los dispositivos a escala nanométrica la distancia que separa su interior de la superficie es de unos cuantos átomos, las transferencias entre su superficie y su interior son casi inmediatas. Este fenómeno se denomina *superficie específica* y entre una partícula de 1 cm de diámetro y una de 1 nm, la superficie específica aumenta en 10 000 000 para la más pequeña. Otros parámetros que varían son los átomos en superficie

respecto al total de átomos del material; así, por ejemplo, en una partícula de 1 cm^3, únicamente 1 de cada 1 000 000 de átomos está en superficie, en cambio, si la partícula es de 1 nm^3, el 60 % de los átomos lo estarán. Esta variación en la cantidad de átomos incide directamente en el punto de fusión de los materiales, haciendo que disminuya considerablemente, como por ejemplo en el oro, el cual tiene un punto de fusión de 1063 °C cuando tiene tamaño macro y cerca de 200 °C cuando tiene tamaño nano.

Los efectos físicos, químicos y mecánicos de los materiales son, pues, muy diferentes en la nanoescala. Para nosotros, la fuerza de gravedad determina nuestra manera de ver y estar en el mundo. Aunque no seamos conscientes de ello, organizamos nuestra visión según conceptos como arriba y abajo, conceptos que simplemente quieren decir «en la dirección en la que tira la gravedad» o «en dirección contraria a la atracción gravitatoria». Sabemos que los objetos caen al suelo y nos sorprende la visión de los astronautas flotando en la ingravidez. Sin embargo, en el mundo nano la fuerza de la gravedad resulta irrelevante y son otras las fuerzas que cobran protagonismo. La tensión superficial, la viscosidad del medio o el electromagnetismo tienen mucha más importancia aquí, hasta el punto de condicionar el comportamiento de los nanomateriales. No hay que olvidar que, a esta escala, el agua ya no es un fluido que rodea un objeto, sino un grupo de moléculas individuales que vibran alrededor del objeto e impactan constantemente contra su superficie. De este modo, la energía cinética transmitida por los impactos de las moléculas de agua pasa a ser muy relevante. Esto hace que, por ejemplo, la capacidad de desplazamiento de un nanobot a través de fluidos corporales dependa mucho más de lo viscoso que sea ese fluido que del peso del nanobot (fig. 3). De nuevo, el motivo es el cambio en la relación entre la superficie y el volumen, que hace que el peso (que depende del volumen) sea irrisorio, todo lo contrario que el rozamiento con otras moléculas (que depende de la superficie) en un fluido relativamente viscoso, aspecto este tan

Fig. 3



A escala nanométrica predominan los efectos de la viscosidad (el número de moléculas de agua que golpean contra una partícula), mientras que cuando aumenta el tamaño de la partícula, gana importancia la gravedad.

importante como para determinar la movilidad del nanobot. Esto hace que las características particulares del fluido donde se mueve el dispositivo sean determinantes, pues avanzar a través de una lágrima, constituida esencialmente por agua, puede resultar infinitamente más sencillo que hacerlo por la sangre, comparativamente más viscosa, ya que contiene moléculas como proteínas o azúcares disueltos y, además, es más turbulenta.

Para nuestro tamaño resulta irrelevante cuál sea la carga eléctrica de unas u otras proteínas de la superficie de la piel, ya que la fuerza electromagnética que ejercen es ínfima. Pero si los átomos de la superficie de un nanobot presentan algún tipo de carga eléc-

trica, desplazarse por un vaso sanguíneo puede resultar imposible, ya que las paredes de la arteria también tienen carga positiva o negativa y lo pueden retener o repeler con una fuerza que resulte imposible de vencer. Esta es una característica que puede ser fuente de muchos problemas para controlar y dirigir elementos en nanomedicina. La clave reside en regular las cargas eléctricas de estos componentes para que queden retenidos o eviten determinadas zonas del organismo.

NANOESTRUCTURAS Y NANOMATERIALES

Pero en el ámbito de la medicina, médicos e investigadores no solo han de adaptarse a las leyes físicas que imperan en la escala nano, sino que deben emplear también nanomateriales (materiales que, al menos en una de sus dimensiones, son inferiores a 100 nanómetros) y nanoestructuras (las herramientas fabricadas con esos nanomateriales) con características particulares que puedan ser introducidos en el cuerpo humano para realizar tareas similares a sus homólogos macroscópicos: unirse a otros elementos, transportar fármacos, cubrir superficies, calentar o enfriar determinadas zonas... Estos nanomateriales pueden consistir en materiales ya existentes cuyas propiedades son diferentes al cambiar de escala o bien materiales nuevos. Aunque la lista de nanomateriales es amplísima, en el campo de la nanomedicina destacan las nanopartículas de óxido y metálicas (de oro y plata) y el grafeno. No obstante, es habitual que estas se consideren también como nanoestructuras, pues pueden ser elementos muy simples.

De lo que se trata es de llevar al límite un proceso que se ha empleado para tratar enfermedades ya desde tiempos remotos, cuando compuestos que contenían plata se aplicaban en forma de polvo sobre las heridas como antisépticos o se usaban sales de zinc como cicatrizantes. Pronto se vio que cuanto más finos eran los granos,

más eficaz era el tratamiento. Esto se debe a que, como ya hemos señalado, a medida que el tamaño de las partículas se reduce, aumenta la superficie de contacto y la reactividad del elemento.

De entre las nanopartículas más básicas, destacan especialmente dos en el ámbito de la nanomedicina: las de oro y las de plata. Las primeras presentan una elevada área superficial y son fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos, como por ejemplo, anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos y material genético, lo que las convierte en una opción idónea para la administración controlada de fármacos o la hipertermia, el análisis mediante biodetección, etcétera. Respecto a las nanopartículas de plata, destacan especialmente por su efecto biocida. Cuando entran en contacto con bacterias y hongos, afectan adversamente el metabolismo celular de ambos organismos, inhibiendo su crecimiento celular. La nanoplata suprime la respiración, el metabolismo basal del sistema de transferencia de electrones y el transporte de sustrato en la membrana celular microbiana.

Micelas, liposomas y dendrímeros

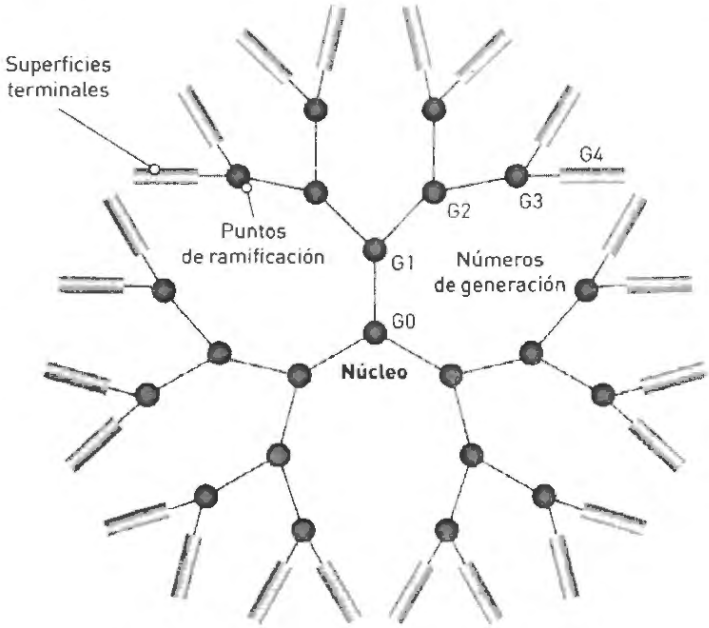
Dentro del mundo de las nanopartículas, destaca un grupo especialmente atractivo por sus posibilidades para transportar y liberar fármacos: es el constituido por las micelas —vesículas formadas por una única capa de lípidos—, los liposomas —vesículas formadas por una doble capa— y los dendrímeros —familia de grandes moléculas—. Hay que tener en cuenta que si lo que pretendemos es transportar un fármaco o cualquier otro producto por el interior del cuerpo, es necesario empaquetarlo de alguna manera que lo mantenga separado del medio externo. La manera más sencilla es imitar la estructura de las células y preparar una membrana que se mantenga estable en el medio acuoso. Los lípidos (las moléculas que forman las grasas) son ideales para este cometido, ya que su tendencia es mantenerse

unidos y sin mezclarse con el agua. Con una membrana de lípidos similares a los que usan las células es factible formar una vesícula o vehículo en el interior de la cual se puede contener el producto que se quiere transportar.

Micelas y liposomas presentan algunas diferencias respecto al tipo de productos que pueden transportar y a la manera en el que entran en las células para verter su contenido. Por ejemplo, las micelas son muy útiles para transportar productos solubles en las grasas, mientras que los liposomas funcionan mejor con moléculas solubles en agua. Si lo que se pretende es transportar fármacos de un tipo u otro, sus características químicas definen cuál de estos dos sistemas de transporte será más eficiente. Probablemente sean las nanoestructuras más estudiadas, ya que su desarrollo se inició en la década de 1970 y ya se comercializan muchas cremas dermatológicas con liposomas para hidratar la piel. Asimismo, las micelas se emplean para transportar medicamentos hasta los tejidos y las células del cuerpo en el campo del cáncer.

Otra alternativa para el transporte a escala atómica son una familia de grandes moléculas llamadas *dendrímeros* (fig. 4). Su nombre, derivado del griego *dendros* (árbol), hace referencia al hecho de que presentan una estructura arborescente, similar a las ramas de un árbol, aunque también nos pueda recordar a la forma de un copo de nieve o incluso a la de una mano extendida. La característica principal es que a partir de un núcleo central emergen diferentes ramas que se van dividiendo en más ramas de manera simétrica. No hay un compartimento interno como en el caso de los liposomas, sino que las moléculas que se pretenden transportar se unen a los extremos o a la superficie del dendrímero. El hecho de ser una estructura arborescente hace que se disponga de muchos lugares de unión, de manera que su capacidad de transporte es elevada. Pero su principal interés reside en que no es necesario unir la misma molécula a todos los extremos: en unos lugares se puede unir el fármaco que se pretende transportar y en otras partes del dendrímero se pueden

Fig. 4



Esquema básico de la estructura de un dendrímero, en el que se aprecia cómo de su núcleo surgen varias ramas moleculares de las que salen otras ramas con tantos niveles como se quiera.

colocar moléculas marcadoras que dirijan el complejo hacia unas células u otras. El resultado es un todo en uno a escala nanométrica que puede ser muy útil para matar células cancerígenas y marcar otras células vecinas al tumor y vigilar su evolución. Por otra parte, este tipo de estructura presenta una interesante flexibilidad: dado que las cadenas están formadas por moléculas que se pliegan en el espacio de manera diferente en función del pH del medio, en condiciones ácidas o alcalinas la estructura del dendrímero se puede modificar, abriéndose y extendiéndose, o cerrándose y compactándose. Se trata de una capacidad que se puede explotar si usamos los dendrímeros para transportar fármacos diseñándolos de manera

que se depositen en lugares donde el pH sea el adecuado para que la estructura se abra.

El grafeno y los nanotubos de carbono

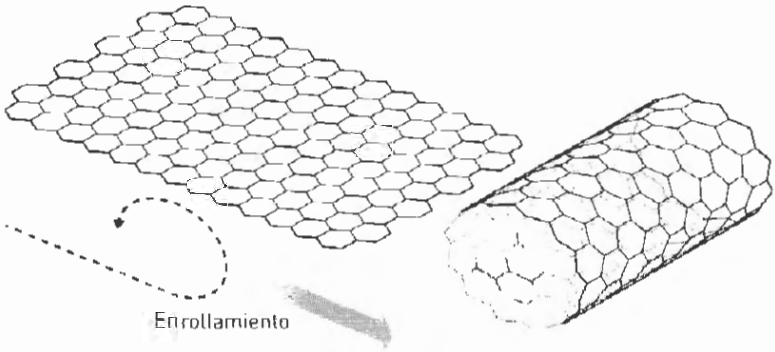
Si en lugar de unirse a células individuales lo que se desea es cubrir superficies de mayor tamaño, como la parte interna de un vaso sanguíneo o la superficie de una fibra nerviosa, se puede recurrir al grafeno, uno de los materiales más versátiles para el diseño de herramientas en nanomedicina. Su estructura básica corresponde a una lámina hecha por átomos de carbono organizados en forma de celdas hexagonales. Pero el grafeno no es un recién llegado a nuestras vidas. Lo hemos visto en infinidad de ocasiones en nuestro quehacer cotidiano: cuando escribimos con un lápiz lo que hacemos es dejar depositadas sobre el papel una cantidad innumerable de capas de grafeno desprendidas de la mina de carbón. Aunque esto podría dar a entender que es un material frágil, en realidad es uno de los más resistentes que existen. Y no es esta su única cualidad: es también flexible, ligero, transparente y conductor del calor y de la electricidad, sin olvidar que interacciona fácilmente con los compuestos biológicos. De este modo, usando el grafeno como base en la fabricación de nanoherramientas, se pueden añadir sensores a su superficie que podrán proporcionar lecturas en tiempo real de diferentes parámetros del organismo. Otras opciones son usarlo como sistema de transporte uniendo los fármacos a su superficie o como estructura para recubrir tejidos u órganos. También se podría aplicar directamente para matar células tumorales aprovechan-

> Una hamaca hecha de grafeno de un metro cuadrado, aun teniendo un espesor de un solo átomo, podría aguantar sin romperse el peso de un niño recién nacido.
>
> ANDRE GEIM

do sus excelentes características como conductor del calor. Estas diferentes aplicaciones se consiguen modificando químicamente su superficie (mediante el añadido de grupos con carga positiva o negativa, así como receptores o anticuerpos específicos), de manera que se adapten a las características deseadas. Otra aplicación sería la de construir nanotubos de carbono. Conceptualmente, estos aparecen de una forma tan sencilla como una capa de grafeno enrollada (fig. 5).

Estos nanotubos corresponderían a los cables con los que podremos construir andamios para controlar la reparación de huesos o para fabricar estructuras de sustitución biomecánica, como músculos o tendones. Con ellos también se podrían guiar células nerviosas en el proceso de regeneración de nervios dañados, uno de los principales retos en el campo de la medicina. Por otra parte, su misma estructura facilita la unión de moléculas muy largas y relativamente rígidas como el ADN, lo que resulta esencial cuando se pretende combinar la nanomedicina con las nuevas terapias génicas. En este tipo de terapias, se introducen en el organismo fragmentos de ADN para reemplazar los genes mutados que, al no ser

Fig. 5



Un nanotubo de carbono de pared simple se forma al enrollar sobre sí misma la estructura hexagonal plana de átomos de carbono (grafeno) que forman cada capa de grafito.

funcionales, impiden que el organismo realice determinadas funciones como, por ejemplo, la correcta síntesis de la insulina en el caso de los diabéticos. Los nanotubos de carbono se pueden adaptar para que ejerzan la función de transportadores del ADN hasta el interior de las células.

Los puntos cuánticos

Estas estructuras aprovechan los sorprendentes efectos de la mecánica cuántica para fabricar mecanismos de detección y de optimización de los sistemas de imágenes médicas. Los puntos cuánticos son estructuras cristalinas de unos cientos de átomos de tamaño, organizados de tal manera que el movimiento de sus electrones queda restringido a una zona determinada de la estructura. Cuando los puntos son iluminados, estos electrones cambian de banda energética, pero inmediatamente vuelven a su estado basal emitiendo luz de determinado color. Esta característica ha resultado tener muchas aplicaciones industriales, pero en el campo concreto de la nanomedicina ha permitido diseñar sistemas para obtener imágenes de alto rendimiento. Con los puntos cuánticos se puede conseguir iluminar tumores, tejidos e incluso células individuales y hacer su seguimiento *in vivo*.

La eliminación de los nanomateriales

Ya hemos visto que existe una gran variedad de materiales que pueden introducirse en el cuerpo con distintos objetivos médicos. Pero tan importante como introducirlos es determinar cuándo y cómo eliminarlos. Los nanomateriales suelen eliminarse mediante la filtración en los riñones y la excreción a través de la orina. Por ello, y para garantizar una óptima eliminación, es necesario que el tamaño

de los elementos sea menor que el de los poros de la membrana del glomérulo renal (la estructura del riñón donde la sangre filtra los productos que elimina). Se ha comprobado que las partículas de tamaño inferior a los 5 nm pueden eliminarse con rapidez (las menores de 4 nm tienen una vida media en el interior del cuerpo de unos pocos minutos), mientras que las de tamaños superiores se mantienen mucho más tiempo en el organismo (hasta quince horas las de más de 10 nm) y pueden causar toxicidad. Por supuesto, el tamaño no es el único factor que tener en consideración, ya que los materiales con los que se recubran para dirigirlos a una u otra estructura pueden alterar estos tiempos, pero sí es el más determinante.

Por más espectaculares que parezcan las metodologías que se empiezan a vislumbrar, no hay duda de que en los próximos años la nanomedicina nos sorprenderá con aplicaciones que hoy apenas somos capaces de imaginar. Por supuesto, en última instancia, un médico será quien decida qué aplicaciones requiere cada paciente y quien verifique el correcto rendimiento de los nanodispositivos a los que confiaremos nuestra salud, pero las tareas rutinarias de comprobar el funcionamiento de nuestros órganos o los procesos de reparación más delicados recaerán en invisibles sistemas que recorrerán el interior de nuestro cuerpo. Una nueva era en el ejercicio del arte de curar está llamando a la puerta y, como veremos a continuación, su primera área de aplicación es el diagnóstico.

02 AFINAR EL DIAGNÓSTICO

Tan solo en el último siglo hemos empezado a disponer de la tecnología necesaria para obtener información del interior de un cuerpo enfermo más allá de la exploración física superficial y el interrogatorio médico. Pero el potencial de la nanomedicina está llamado a revolucionar la manera de diagnosticar las enfermedades.

El nanodiagnóstico ocupa una posición preferente en lo que se refiere a las posibilidades médicas de la nanotecnología, dado que probablemente sea esta el área en la que se pueden obtener soluciones más concretas a corto plazo. De lo que se trata es de identificar las enfermedades en sus etapas iniciales, cuando su desarrollo es aún muy limitado. Para ello disponemos de una serie de nanodispositivos o directamente de nanopartículas, que se pueden utilizar *in vivo* o *in vitro*. El primer tipo de diagnóstico por lo general requiere que los nanodispositivos puedan penetrar en el organismo para identificar y cuantificar la presencia de un determinado patógeno o células cancerígenas. No obstante, en este caso es condición básica que los materiales de los que esté hecho el nanodispositivo sean biocompatibles para así asegurar su eficacia y minimizar los posibles efectos secundarios. El segundo tipo de nanodiagnóstico, el *in vitro*, ofrece una mayor flexibilidad de diseño, ya que se puede aplicar a pequeñas muestras de fluidos corporales o de tejidos, de modo que se detecte rápidamente y de forma fiable todo posible patógeno o defecto genético.

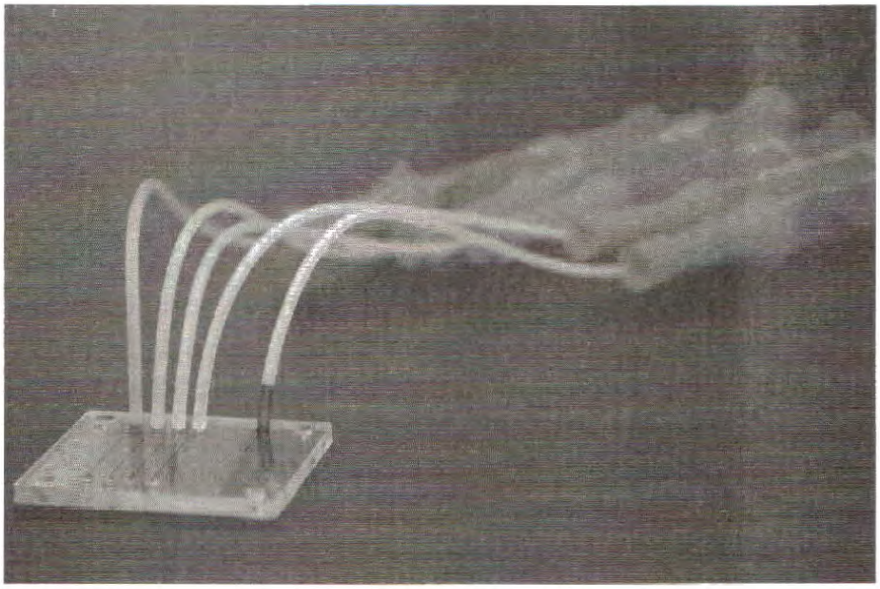
En los últimos años se han realizado avances espectaculares en este tipo de diagnóstico. A continuación, veremos algunos ejemplos de este tipo de aplicaciones.

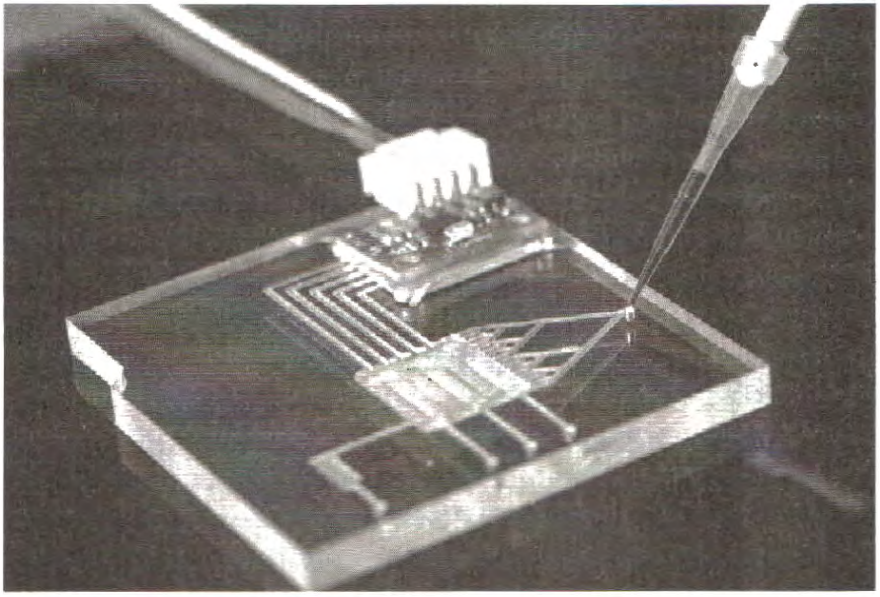
EL LABORATORIO EN UN CHIP

Las micro y las nanotecnologías han proporcionado las herramientas necesarias para llevar a cabo una mejora sustancial del diagnóstico al permitir la fabricación e integración de elementos como los micro/nanosensores en un mismo chip, denominado *laboratorios en un chip* (*labs-on-a-chip*), los cuales están comenzando a revolucionar enormemente el sector clínico orientado al diagnóstico. Se trata de un dispositivo de solo unos centímetros cuadrados de área formado por un entramado de canales, cada uno con un ancho y una profundidad de tan solo unos micrómetros, diseñado de forma que los fluidos que circulen por ellos reaccionen químicamente entre sí conforme a lo que se necesite para algún fin determinado.

Realmente, el aspecto de un laboratorio en un chip puede recordar al entramado de líneas rectas acodadas e interconectadas de un chip electrónico. Ese soporte suele estar hecho de una silicona, el PDMS o polidimetilsiloxano, una sustancia blanda, elástica y transparente (un «elastómero»), aunque pueden utilizarse también el vidrio o incluso el papel, muy oportuno para aplicaciones médicas desechables de bajo coste.

Para grabar la red de canales se usan unos métodos que, en conjunto, reciben el nombre de «litografía blanda» (una alternativa en estudio es la impresión 3D) y que derivan de los que se usan en la fabricación de los circuitos integrados informáticos. El primer paso consiste en construir una matriz de forma parecida a como se hace para fabricar un circuito integrado electrónico. A continuación se irradia con radiación ultravioleta una máscara opaca en la que el patrón de los canales está inscrito en forma de





— Dos tipos de laboratorio en un chip. En el de la imagen superior, se realizan análisis de diferentes muestras que se introducen en el dispositivo a través de jeringuillas; en el de la inferior, una misma muestra es sometida a diferentes análisis.

ranuras transparentes. Esta máscara se aplica sobre un material que presenta diferente susceptibilidad a ser eliminado después con un producto disolvente según haya recibido la radiación o no. La matriz que se crea así sirve como molde maestro para fabricar los laboratorios en un chip en PDMS. Por último, se desprende el PDMS así modelado, se lo trata para endurecerlo y se lo sella con vidrio al que queda adherido mediante otro procedimiento específico. Esta es la forma más simple: los canales se pueden rellenar con polímero, es decir, con algún plástico, y luego retirar el PDMS, o se puede usar el PDMS ya roturado como un tampón que se aplica sobre otro material.

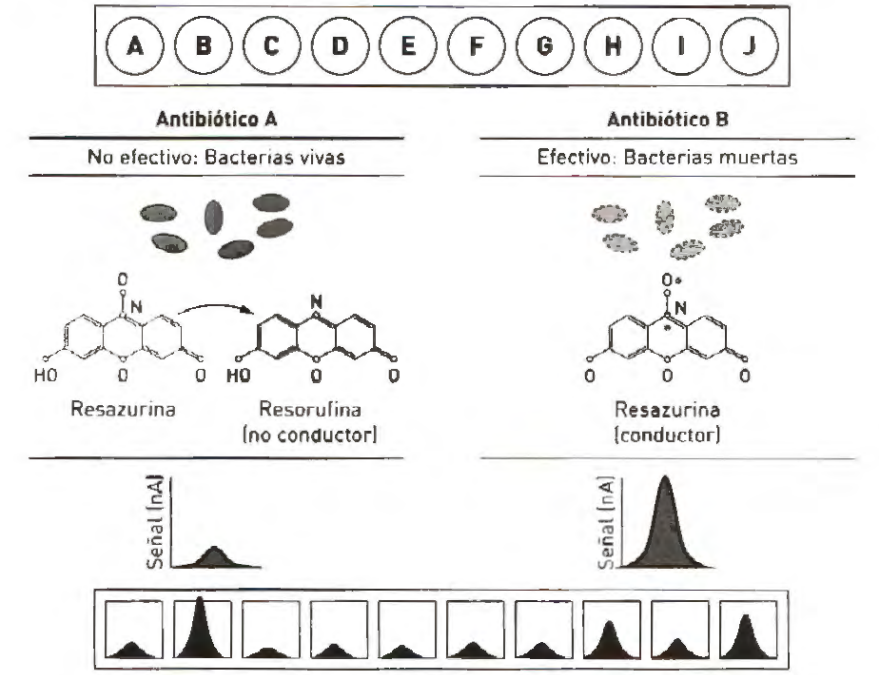
> El diagnóstico no es el fin, sino el comienzo de la práctica médica.
>
> MARTIN H. FISCHER

El empleo de estos dispositivos aporta grandes ventajas a la hora de investigar células (cuyos tamaños son del orden de las dimensiones de un microcanal), proteínas (son adecuados para su cristalización, necesaria para estudiarlas mediante rayos X o con neutrones) o ADN (son muy eficaces para la reacción en cadena de la polimerasa, la operación que permite copiar indefinidamente fragmentos de ADN y facilita así el estudio o la identificación de este).

Pero las posibilidades de los laboratorios en un chip no se quedan aquí: en la actualidad se está trabajando en dispositivos que, a partir de toda una batería de análisis realizados simultáneamente, sean capaces también de diagnosticar enfermedades. Para que ello sea realidad es necesario contar con chips tan baratos que puedan ser desechables.

Un ejemplo reciente de chip microfluídico es el que se está desarrollando en la Universidad de Toronto, capaz de analizar la sensibilidad a los antibióticos de las bacterias presentes en una muestra (fig. 1), y en menos de una hora, un plazo asombrosamente breve comparado con los dos o tres días que se necesitan para un análisis remitido a un laboratorio. El chip tiene una serie de pocillos nanomé-

Fig. 1



En un chip de detección de sensibilidad a antibióticos, la corriente solo circula en los pocillos con medicamentos efectivos. Cuanto más alta sea la intensidad, más eficaz es el antibiótico. (Arriba, el B, seguido por el H y el J.)

tricos y cada uno contiene un antibiótico diferente. Al pasar por ellos llevadas por el flujo de la muestra a través del circuito del chip, las bacterias quedan atrapadas por un filtro, lo que, habida cuenta de la pequeñez del pozo, aumenta mucho la concentración de las mismas con respecto a la muestra original. A esos pocillos se les añade también una pequeña cantidad de resazurina, un tinte azul que tiene la propiedad de facilitar el paso de una pequeña cantidad de corriente eléctrica. Las bacterias tienen la capacidad de degradar esta molécula, de manera que no tardan en transformarla en resorufina, una mo-

lécula similar, pero que ya no permite el flujo de corriente. La clave del sistema es que si el antibiótico destruye las bacterias, la resazurina no desaparece y el flujo de corriente se mantiene elevado. En la práctica basta con depositar unos pocos nanolitros de muestra en el chip, esperar una hora y medir el flujo de corriente. La electrónica necesaria para esa medición puede instalarse en un equipo de pequeño tamaño que podría estar en el despacho de un médico. De este modo unas pocas horas bastan para afinar el diagnóstico, mientras que con métodos tradicionales antes de saber el resultado habría sido necesario aplicar un antibiótico de amplio espectro, con el consiguiente retraso del proceso.

ANÁLISIS EN TIEMPO REAL: NANOBIOSENSORES

Aunque los laboratorios en un chip pueden llegar a multiplicar la capacidad de análisis de cualquier hospital, no evitarían la limitación de la toma periódica de muestras para hacer un seguimiento de la enfermedad. Para ello será necesario el desarrollo de sensores incorporados al cuerpo (es decir, biosensores, o mejor aún y dado su tamaño, nanobiosensores) que monitoricen de manera constante nuestro organismo y detecten en tiempo real todo tipo de sustancias químicas o biológicas en él.

Un biosensor es un dispositivo compuesto por dos elementos fundamentales e íntimamente integrados: un receptor biológico preparado para detectar una sustancia y un sensor capaz de interpretar la reacción de reconocimiento biológico que produce el receptor y traducirla a una señal cuantificable. La perfecta integración de ambos es precisamente lo que posibilita la capacidad de sensibilidad y selectividad del dispositivo, y lo que le permite realizar análisis en tiempo real y de forma directa, sin marcadores, de la sustancia por determinar. A diferencia de los laboratorios en un chip, que se suelen diseñar para medir un amplio abanico de

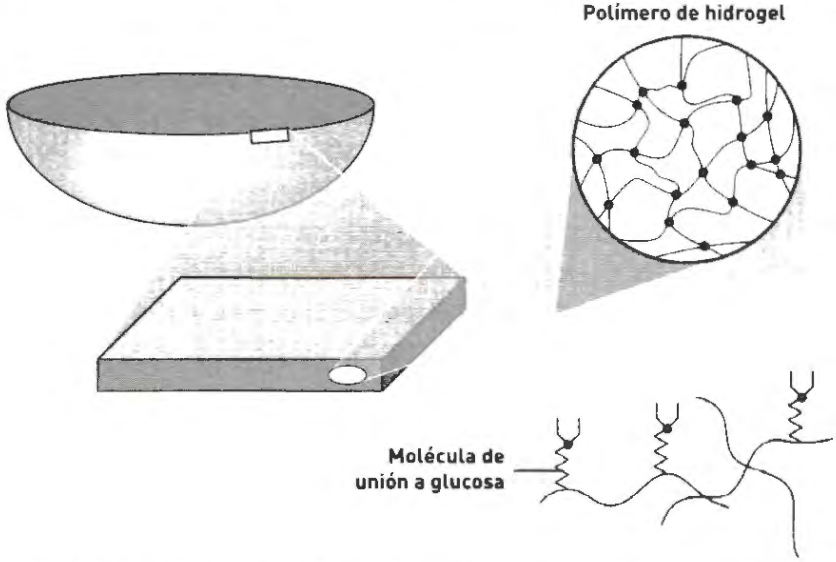
productos, los nanobiosensores se centran en un único parámetro, lo que permite dedicar más espacio y energía a la transmisión de la señal. Porque, obviamente, no serviría de nada detectar un aumento en los niveles de colesterol o la presencia de células tumorales si no se puede transmitir esta señal al exterior de manera inmediata.

La medición de la glucosa

Un buen ejemplo de las estrategias usadas para monitorear enfermedades lo tenemos en el desarrollo de sensores de los niveles de glucosa para pacientes diabéticos. La diabetes es una afección crónica que se desencadena cuando el organismo pierde su capacidad de producir suficiente insulina o de utilizarla con eficacia. La insulina es una hormona que se fabrica en el páncreas y que permite que la glucosa de los alimentos pase a las células del organismo, donde se convierte en energía para que funcionen los músculos y los tejidos. Como resultado, una persona con diabetes no absorbe la glucosa adecuadamente, de modo que esta queda circulando en la sangre y dañando los tejidos con el paso del tiempo. Por eso es fundamental un control continuado de los niveles de glucosa en sangre. Actualmente existen implantes subcutáneos que durante unos días transmiten a un monitor los niveles de glucosa que detectan. Aunque son un gran avance, aún son sistemas caros y con duración limitada.

La alternativa en la que se trabaja desde hace unos años consiste en aplicar estrategias basadas en sensores nanométricos para detectar los niveles de glucosa en las lágrimas. Aunque la concentración de glucosa en estas no es la misma que en la sangre, los cambios en una se reflejan en la otra, de manera que se puede deducir el estado de la glucemia del paciente midiéndola en el líquido que recubre los ojos. De ahí la estrategia de diseñar lentillas que contie-

Fig. 2



En las lentillas detectoras de glucosa, la capa interna en contacto con el ojo está formada por un hidrogel al que se han añadido unas moléculas con capacidad para unirse a la glucosa.

nen un sistema que reacciona con la glucosa y cambia de color en función de la concentración.

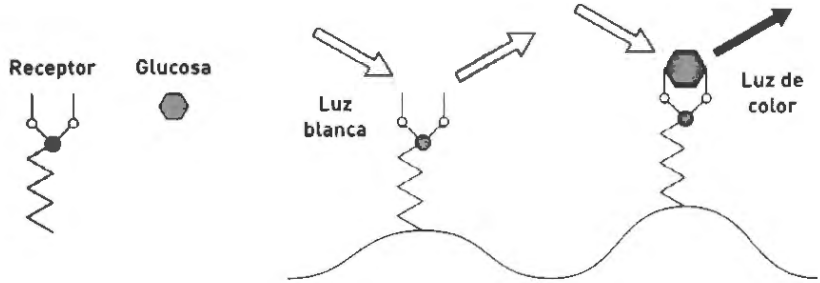
El principio se basa en fabricar una marriz de hidrogel que constituya la parte interior de la lentilla y en la que se inserten determinadas moléculas a las que la glucosa se puede unir (fig. 2). El hidrogel es un tipo de material formado por cadenas poliméricas entrelazadas entre sí y que acumulan una importante cantidad de agua en su interior, con lo que se transforman en una estructura flexible y blanda. Unas características físicas estas que podemos ver en la gelatina o en la clara de huevo cocido, que no dejan de ser ejemplos naturales de hidrogeles.

La clave de las lentillas detectoras de glucosa es que la manera en la que la luz atraviesa el hidrogel será diferente cuando la gluco-

sa se una a este. En ausencia de glucosa, el hidrogel no tiene efecto apreciable sobre la luz, pero cuando se le une la glucosa, el conjunto tiene la capacidad de absorber parte de la energía de la luz. Esto se plasma en un cambio de color, ya que la energía absorbida corresponde a determinadas longitudes de onda. En la práctica, todo ello se traduce en que cuando haya una cantidad suficiente de glucosa en las lágrimas la lentilla cambiará de color (fig. 3).

En consecuencia, bastará con notar que la pupila adquiere una tonalidad diferente de la habitual para saber que los niveles de glucosa presentes en las lágrimas están aumentando más allá de lo normal. Hay diseños que incluyen la posibilidad de medir la intensidad del color con una aplicación del teléfono móvil, de manera que se identifique la concentración exacta de glucosa en la lágrima. En este caso basta con obtener una fotografía de la pupila (básicamente, un *selfie*) y el programa instalado en el móvil podrá correlacionar el color con la concentración exacta de glucosa. Otros proyectos quieren ir un paso más allá y que sea la lentilla la que envíe señales a sensores que se puedan llevar como si fueran una pulsera o unos pendientes y que emitan avisos cuando se detecte una tendencia

Fig. 3



Las moléculas receptoras de la lentilla están diseñadas de manera que, cuando una molécula de glucosa se una a ellas, sean capaces de modificar la longitud de onda (es decir, su color) del rayo de luz que las atraviesa.

anómala. La evolución final llegará cuando se puedan incluir sistemas para dispensar automáticamente la insulina en los momentos en los que el sensor considere que es necesaria.

Si finalmente estos sistemas terminan imponiéndose serán un excelente ejemplo de las posibilidades de la nanomedicina en el control de enfermedades que ya están diagnosticadas y que requieren una monitorización constante.

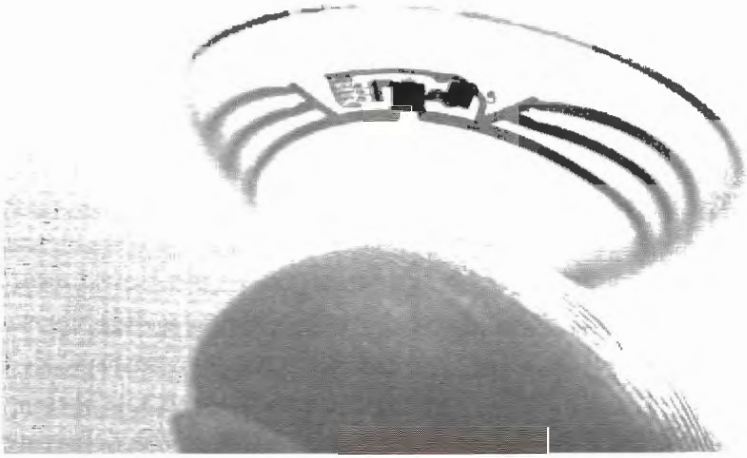
NANOSISTEMAS DE CAPTACIÓN DE IMAGEN: MARCADORES Y AGENTES DE CONTRASTE

Pero los nanobiosensores no son la única herramienta de diagnóstico que se está poniendo en marcha en este campo de la nanomedicina. Otra son los nanosistemas de imagen, que nos permiten observar el interior del organismo con mayor detalle. Estos nanosistemas se basan en el uso de nanopartículas, habitualmente, semiconductoras, metálicas o magnéticas, como agentes de contraste para marcaje en vivo. Estos nuevos sistemas permiten aumentar la sensibilidad y dan mayor contraste en las técnicas de imagen. Y es que observar el interior del cuerpo sin necesidad de realizar ninguna incisión ha sido el sueño de los médicos durante siglos. Un sueño que empezó a hacerse realidad en el momento en el que se descubrieron los rayos X y se vio que estos permitían ver los huesos y otras zonas de diferentes densidades del cuerpo. Desde esas primeras radiografías se ha recorrido un largo camino, fruto del cual son sistemas de imágenes como la resonancia magnética.

Todas estas tecnologías dependen de conseguir un buen contraste entre un tejido y las zonas adyacentes. En el caso de las radiografías, los rayos X que atraviesan el cuerpo son absorbidos de diferente forma por los diversos tejidos. Dado que los huesos absorben la mayor parte de la radiación que les llega porque son más densos que los músculos, se ven más blancos en la radiografía. En el otro extre

> UNAS LENTILLAS DETECTORAS DE LA GLUCOSA

Uno de los proyectos más prometedores para conseguir lentillas detectoras de niveles de glucosa es el que lleva a cabo el gigante Google. Se trata de lentillas que incorporan un sistema electrónico capaz de enviar una señal inalámbrica a un receptor situado en collares, pendientes o diademas, y que encendería una luz cuando los niveles de glucosa sobrepasasen determinado nivel. La idea es que las lentillas incluyan una antenita en forma de anillo, un procesador para medir los niveles de glucosa y otro procesador para enviar la información al teléfono móvil mediante radiofrecuencia. Estas herramientas estarán en el interior de la lentilla, no en contacto con la pupila o el iris. El resto de la lentilla estará elaborada con los materiales con los que se fabrican actualmente las lentillas, por lo que serán blandas y flexibles. Otra opción es que la lentilla incluya también una luz LED que se encendería como un intermitente si los niveles de glucosa son muy elevados o muy bajos. La lentilla contará con un agujero en la parte exterior más pequeño que un alfiler para que la lágrima pueda entrar en ella y alcanzar los sensores.



— Lentilla inteligente que está diseñando el gigante tecnológico Google.

tejidos blandos como los músculos o la grasa captan muy poca radiación, por lo que se ven oscuros en la placa. Las radiografías iniciales fueron evolucionando hasta llegar a las tomografías computarizadas, que consisten en realizar simultáneamente diversas radiografías desde diferentes ángulos y, con la información obtenida de cada una de ellas, reconstruir una única imagen del interior por medios informáticos.

La calidad de las imágenes disponibles en la actualidad es muy superior a la de hace un siglo y, además, ya no hace falta emplear niveles tan elevados de radiaciones como antes. Pero el funcionamiento de estos sistemas sigue basándose en la diferencia de contraste entre un tejido (como un tumor) y el adyacente. Incluso los sistemas más complejos, como la resonancia magnética nuclear, se basan en detectar contrastes entre zonas. En este sistema no se emplean rayos X, sino una combinación de ondas de radio y de campos magnéticos intensos. Estos alinean en su misma dirección espacial a los campos magnéticos intrínsecos de los núcleos de los átomos de hidrógeno del agua del cuerpo (cada uno es un protón, que tiene un campo magnético propio ligado a una propiedad cuántica, una propiedad de la física de las partículas a escala atómica conocida como *espín*), y la onda de radio los gira. Sin ese estímulo vuelven a su posición de equilibrio en el campo magnético externo y emiten su propia onda de radio, que es lo que capta el aparato de toma de imágenes para crear estas basándose en que la intensidad de esa emisión depende de la cantidad de agua en los tejidos, que es variable entre unos y otros. La calidad de la imagen depende, pues, de que la diferencia entre las zonas contiguas sea suficientemente grande.

No obstante, puede ocurrir que los límites entre huesos, músculos, tumores... no queden suficientemente diferenciados. Del mismo modo que para resaltar una figura en una imagen podemos dibujar una línea oscura siguiendo su silueta, se necesita algo que resalte el perfil del tumor, el conducto, el tejido o la estructura que el

médico necesita ver. Por este motivo se suelen utilizar diferentes sistemas de contraste que consisten en la administración de alguna sustancia que sea opaca a las radiaciones usadas y que se distribuya preferentemente por la zona que se quiere explorar. Las papillas de bario, usadas para estudiar el tracto digestivo, los productos con base de yodo para el estudio de vasos sanguíneos o los compuestos con gadolinio para las resonancias magnéticas son ejemplos habituales de técnicas de contraste.

> La frontera entre lo bio y lo nano es la que define las posibles aplicaciones de nanopartículas y nanosistemas en el campo biomédico.
>
> Luis M. Liz-Marzán

Y aquí es donde entra de nuevo la nanotecnología. Si queremos distinguir un hueso de un tumor nos interesa delimitar este último de la forma más precisa posible, y un modo de hacerlo es repartiendo partículas de escala nanométrica por la superficie del tumor. La precisión en el perfil de la zona marcada dependerá del tamaño de las partículas usadas para generar el contraste. No deja de ser un proceso similar al que tiene lugar cuando se aumenta el número de píxeles de una cámara para mejorar la calidad de la imagen obtenida. Cuanto más pequeños sean los píxeles, mayor precisión. Del mismo modo, cuanto más pequeñas sean las partículas que se utilicen en los contrastes para discriminar tejidos, tanto mayor será la precisión.

El rendimiento de las nanopartículas se ve favorecido por su capacidad de difundirse mejor y alcanzar lugares del cuerpo de difícil acceso. Donde las partículas de tamaño microscópico pueden tener dificultades para abandonar los vasos sanguíneos, las de tamaño nanométrico pueden filtrarse sin dificultad. Por supuesto, las características químicas de las diferentes nanopartículas en concreto serán determinantes para su distribución, pero la nanotecnología ya permite diseñar sistemas de contraste nanométricos adaptados a las diferentes necesidades.

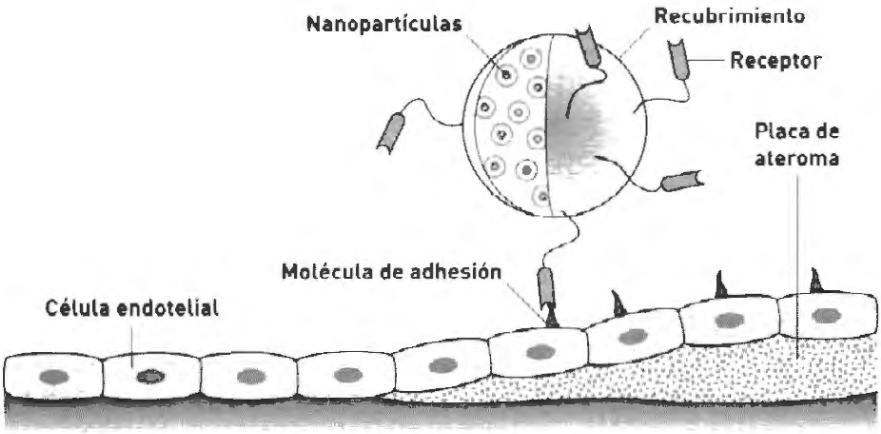
Nanopartículas magnéticas

Uno de los casos en los que una partícula de tamaño nanométrico puede diferenciarse del material de partida de mayor tamaño es su comportamiento cuando se la somete a un campo magnético. Es lo que sucede, por ejemplo, con las nanopartículas de óxido de hierro, más concretamente del óxido de hierro conocido como magnetita, cuyo comportamiento magnético es distinto al de una pieza grande de magnetita. Esta es ferromagnética, es decir, es permanentemente un imán, sin necesidad de que se le aplique un campo externo. En cambio, las nanopartículas de magnetita no tienen un campo magnético propio porque su campo intrínseco ferromagnético va cambiando espontáneamente como consecuencia de encontrarse a alguna temperatura determinada. De este modo puede decirse que son magnéticamente nulas, al menos hasta que son sometidas a un campo magnético externo. Entonces generan un nuevo campo magnético en la misma dirección que ese campo externo. Esta propiedad es conocida como paramagnetismo. Las nanopartículas de magnetita son superparamagnéticas, pues sometidas a un campo externo adquieren un campo magnético intrínseco. Y esa es precisamente la razón por la que resultan útiles como medio de contraste: con su comportamiento magnético bajo el campo aplicado en la técnica de resonancia magnética reducen un componente de la señal de los protones del organismo, y así aumentan el contraste con las zonas contiguas en las que no hay nanopartículas.

Pero antes, hay que diseñar nanopartículas de óxido de hierro que estén recubiertas con alguna molécula que tenga la capacidad de unirse preferentemente a las células tumorales. Esta condición no es nada fácil de conseguir, ya que cada tumor es diferente y, en general, no existe ninguna proteína o estructura que únicamente se encuentre presente en el tumor. Aunque no haya proteínas totalmente específicas para los tumores, estos sí que presentan cambios notables en las cantidades de algunas proteínas unidas a su

> MIDIENDO LA ARTERIOESCLEROSIS

El uso de nanopartículas para mejorar el contraste en los medios de obtención de imagen pasa por preparar un recubrimiento biocompatible a base de polímeros que las encapsule. Es el caso de la detección de las placas de ateroma para el diagnóstico de procesos arteroscleróticos. Las placas de ateroma consisten en el depósito y acumulación en las arterias de material lipídico (colesterol y metabolitos relacionados), así como de células relacionadas con los procesos inflamatorios. Este acúmulo tiene lugar entre la capa de células endoteliales y la capa basal muscular donde estas se sustentan. El reclutamiento de las células inflamatorias al interior de la placa tiene lugar por la presencia en la superficie de las células endoteliales afectadas de unas proteínas denominadas *moléculas de adhesión* que pueden usarse como marcadores. Así, las nanopartículas encapsuladas se adhieren y acumulan en la zona afectada y, como resultan opacas a radiografías e imágenes por resonancia magnética, podrá evaluarse el alcance de las lesiones.

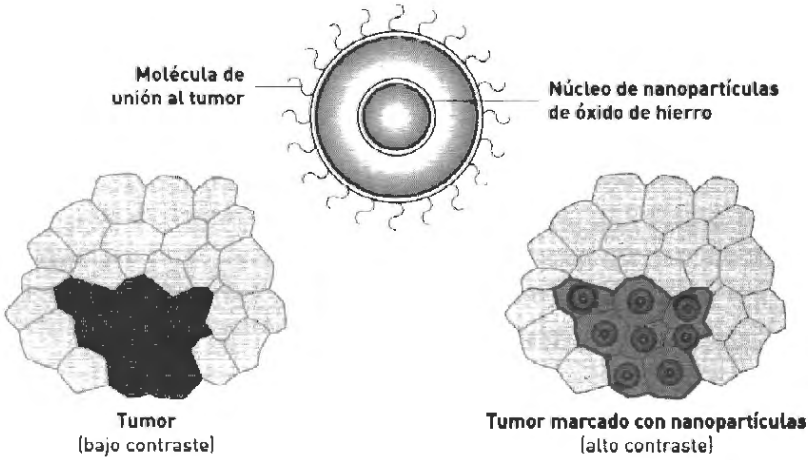


— La cápsula que contiene las nanopartículas se une a la célula endotelial a través de la molécula de adhesión.

superficie. Las nanopartículas dotadas de las proteínas o estructuras adecuadas pueden detectar esta presencia anómala de proteínas en determinadas células, y unirse específicamente a ellas (fig. 4). Incluso hay experimentos que indican que, cuando las células tumorales se llenan de hierro, llaman la atención del sistema inmune (que es el encargado de protegernos de infecciones, tumores, etc.), que se activa de forma más intensa para combatirlas.

Un ejemplo en el que es muy necesario disponer de una elevada precisión en el contraste de las imágenes es la identificación del ganglio centinela en el cáncer de mama. Los ganglios forman parte del sistema linfático, la red que transporta la linfa (líquido transparente cuya principal función es depurar tóxicos) por todo el organismo. En concreto, el ganglio centinela es el primero de los ganglios al que llegan las células cancerosas. Por eso es tan importante identificarlo, porque desde él se van a diseminar por el siste-

Fig. 4



Las nanopartículas de hierro se unen a las células tumorales (a las que detectan por su aberrante presencia de proteínas), las llenan de hierro y, por tanto, las oscurecen. De este modo, las células tumorales se ven con más facilidad.

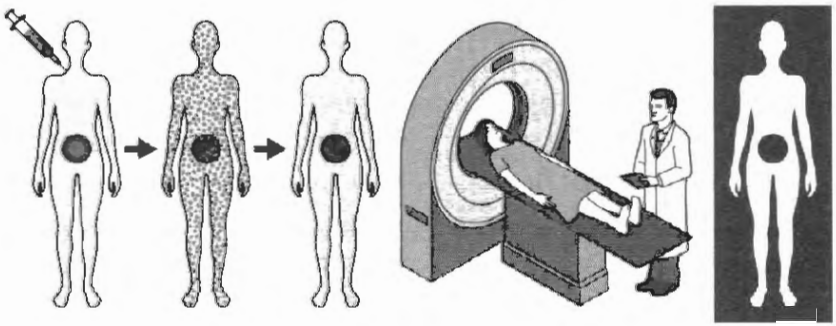
ma linfático (por tanto, por todo el cuerpo) las células tumorales provenientes del tumor mamario.

Para detectar el ganglio centinela se administra un marcador en la zona del tumor: la linfa lo recoge y lo lleva a través de los vasos linfáticos. El marcador usado suele ser un producto radioactivo con una mezcla de colorante. De esta manera se pueden visualizar de forma bien contrastada todos los ganglios en la radiografía e identificar el primero que ha recibido células tumorales (el centinela). Con esta información y la ayuda del colorante, el cirujano lo puede extraer sin problemas. Pero hay que tener en cuenta que las sustancias radiactivas que se emplean no son inocuas, y por ello se está desarrollando el uso de nanopartículas que las reemplacen. Ahí es donde intervendrían las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro, que por su tamaño se difunden perfectamente a través del sistema linfático.

Otra manera de usar nanopartículas en el diagnóstico del cáncer consiste en administrar los óxidos de hierro o algún compuesto similar con propiedades paramagnéticas de manera que circulen por el torrente sanguíneo. Su presencia hará que, en una imagen por resonancia magnética, las arterias y venas queden muy opacas, de manera que los tejidos con más vasos sanguíneos, como el hígado o el bazo, aparecerán muy oscuros, mientras que los tejidos poco irrigados, como el tejido adiposo o los huesos, se verán más brillantes (fig. 5). En el caso de un tumor en el hígado, la cantidad de sangre que circula por su interior será menor que la que hay en el tejido sano que lo rodea, de manera que las imágenes detectarán una mancha blanca correspondiente a la zona tumoral. Y debido a su tamaño y al alto contraste que ofrecen las nanopartículas, el perfil del tumor se distinguirá con una altísima precisión. De este modo, el cirujano sabrá exactamente cuál es la zona afectada y cómo hay que plantear la intervención en el caso de que esta sea posible.

Esta aproximación puede parecer, y ciertamente es, menos específica, ya que en realidad las nanopartículas se mantienen en los vasos

Fig. 5



Las nanopartículas magnéticas se inyectan al paciente y tras un cierto tiempo se acumulan en el tumor. Sus propiedades hacen que en una resonancia magnética aparezcan contrastadas e indiquen con precisión la localización del tumor.

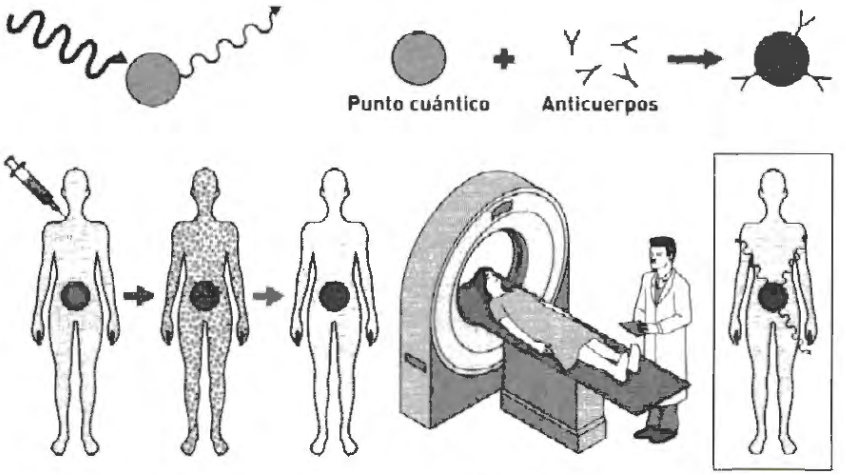
sanguíneos de manera que lo único que muestran son zonas con mayor o menor irrigación sanguínea. Pero en muchos tipos de tumores esto es más que suficiente, ya que la vascularización que presentan es marcadamente diferente de la del resto del órgano afectado.

Iluminando las células con puntos cuánticos

No cabe duda de que todas estas mejoras han aumentado el contraste de las imágenes, pero existen algunos casos —como por ejemplo para identificar una única célula cancerosa que haya escapado a la detección y o para diferenciar entre un diagnóstico benigno y uno maligno a partir de una única célula cancerosa— en los que se requiere aumentar la sensibilidad y el nivel de precisión. Es entonces cuando se puede recurrir a los puntos cuánticos. Como hemos visto en el primer capítulo, estas estructuras están fabricadas con un número reducido de moléculas de compuestos que, cuando son excitados, emiten luz de longitud de onda muy precisa. Este tipo de

fluorescencia es particularmente intensa y mucho más estable que la que se obtiene con los marcadores actuales, de manera que permite que el producto se distribuya por el cuerpo hasta alcanzar su destino (por ejemplo, células tumorales) sin perder intensidad. Para conseguir su objetivo, los puntos cuánticos deben unirse a anticuerpos que identifiquen marcadores en la superficie del tumor. Como ya se ha comentado, es frecuente que las células tumorales presenten alguna proteína en cantidades mucho más elevadas que en el tejido sano, lo que puede aprovecharse para conseguir que los anticuerpos con los puntos cuánticos unidos se acumulen en el tejido tumoral. Pasado un tiempo desde su introducción en el organismo, casi la totalidad de estas nanopartículas quedará unida a las células que forman parte del tumor iluminándolo mucho más intensamente (fig. 6). Para evitar que los macrófagos (células del sistema inmunitario que luchan contra las sustancias extrañas para el

Fig. 6



Los puntos cuánticos emiten fluorescencia cuando son estimulados. Si se marcan con anticuerpos específicos contra células tumorales, se acumularán en el tumor e iluminarán las células tumorales del paciente.

organismo) fagociten y destruyan a los puntos cuánticos se están usando polímeros como el polietilenglicol, que los invisibilizan a ojos de los macrófagos.

La utilidad de los puntos cuánticos resulta más eficaz para el análisis de los tejidos biopsiados. En estos casos, cuando la muestra se coloca bajo el microscopio para ser analizada por un patólogo, el uso de puntos cuánticos permite detectar no solo las células tumorales, sino también las diferentes poblaciones de células que conforman el tumor. Usando anticuerpos específicos y puntos cuánticos que emitan a diferentes longitudes de onda, el analista puede ver iluminado en diferentes colores, por ejemplo, las células tumorales, las estructuras que envuelven el tumor y los vasos sanguíneos que lo irrigan, todo en una única imagen.

El desarrollo de estos y otros sistemas de diagnóstico, en definitiva, permitirá a los clínicos una identificación temprana y, por tanto, una rápida capacidad de respuesta y la inmediata aplicación del tratamiento adecuado. En última instancia, la decisión sobre qué hacer con nuestra salud seguirá siendo nuestra, pero estamos a punto de disponer de los instrumentos de control que harán que la falta de conocimiento o de información ya no sea un motivo para dejar de tomar las medidas correctivas oportunas.

No obstante, las aplicaciones de la nanotecnología a la práctica de la medicina no acaban con el diagnóstico; otra de las vías de investigación más prometedoras es la que tiene que ver con el tratamiento de patologías, como veremos en el próximo capítulo.

03

UN NANOEJÉRCITO PARA MEJORAR NUESTRA SALUD

Un diagnóstico acertado permite identificar la enfermedad y ofrecer el mejor tratamiento para restablecer la salud. Las grandes mejoras de la medicina han ido asociadas a disponer de fármacos cada vez más eficaces o de un material quirúrgico más elaborado y preciso, una tendencia que la nanomedicina está llevando hasta el extremo.

Desde nuestros orígenes, los seres humanos hemos recurrido a las plantas para obtener diferentes moléculas o principios activos que nos permitan contrarrestar los efectos de las enfermedades. El desarrollo de la ciencia moderna ha permitido ir ampliando el arsenal de fármacos disponibles más allá de los que la naturaleza ofrece, pero siempre ha sido necesario lidiar con un problema de difícil solución: controlar de manera eficiente el destino final del medicamento.

Ese es precisamente uno de los grandes objetivos que persigue la nanomedicina. Se trata de utilizar nanoestructuras que consigan llevar el fármaco hasta la zona dañada y lo liberen como respuesta a un cierto estímulo, sin que durante su trayecto hasta ese punto haya perdido sus propiedades físico-químicas. El fármaco, además, debe liberarse a una velocidad determinada para que sea realmente efectivo. El modo de conseguir esto puede ser bien controlando la velocidad de degradación de la cápsula que contiene los fármacos, bien el control de ciertas condiciones en la zona dañada, como el pH o la temperatura. La nanomedicina, sin embargo, no se con-

forma con esto, sino que sobre todo pretende lograr tratamientos que se adapten a las particularidades de cada patología, lo que los haría infinitamente más efectivos que los actuales.

LA LUCHA CONTRA EL CÁNCER

El cáncer es el nombre común que recibe un conjunto de enfermedades relacionadas en las que se observa un proceso descontrolado en la división de las células del cuerpo que, si no se trata, puede conducir a la muerte del paciente. Uno de los métodos más usados para combatir el cáncer es la quimioterapia, un tipo de medicamentos que tienen la capacidad de inhibir la evolución de los tumores malignos restringiendo ciertos mecanismos bioquímicos específicos de la multiplicación de sus células. Sin embargo, la dispersión de los agentes usados en la quimioterapia resulta particularmente problemática, ya que destruyen tanto las células tumorales como las sanas. Aunque se intenta que afecten con mayor eficacia a las cancerígenas, los efectos secundarios se deben, sobre todo, a la acción de estos fármacos sobre células sanas. La solución para evitar que esto suceda reside en dirigir el tratamiento directamente hacia el tumor mediante contenedores, habitualmente micelas y liposomas.

Como ya se ha comentado en el primer capítulo, la diferencia principal entre estos dos tipos de vesículas se encuentra en la estructura de la membrana que los forma. Esta es de doble capa en los liposomas, mientras que en las micelas es de capa sencilla. Esto hace que sus aplicaciones sean esencialmente diferentes. Los liposomas permiten transportar productos que sean solubles en agua: su doble membrana presenta dos lados hidrosolubles, de manera que la parte exterior le permite circular sin problemas por el plasma, y la parte interior puede contener una pequeña cantidad de agua con los fármacos que se desee transportar en disolución. El

problema se da con los productos que no son solubles en agua sino en grasas: los liposolubles. Sus características impiden mantenerlos en el interior de una vesícula construida con una membrana que presenta afinidad por el agua en ambos lados. Por eso, para transportar sustancias solubles en grasas, hay que emplear micelas en lugar de liposomas. Puesto que las micelas son vesículas delimitadas por una membrana constituida por una capa sencilla de fosfolípidos o moléculas similares, se pueden construir de manera que la parte que presenta afinidad por el agua quede en el exterior, mientras que, en el interior, la parte afín a los lípidos contenga los fármacos liposolubles sin problemas. Así, agentes anticancerígenos con características hidrofílicas como la doxorrubicina se transportan preferentemente en liposomas, mientras que las micelas permiten mejores resultados con moléculas lipofílicas como el paclitaxel, uno de los clásicos agentes contra el cáncer. Este se emplea como nanofármaco envuelto en nanopartículas de albúmina desde el año 2005. La albúmina es una proteína muy estable, y su uso como nanovehículo de fármacos es muy práctico porque es muy biodegradable.

> La nanotecnología puede vencer la resistencia del cáncer a algunos fármacos, resultando incluso más eficaz que la quimioterapia.
>
> Patrick Couvreur

En este sentido, la clave de estos nanovehículos es que protegen a los fármacos en su interior y los transportan a través del sistema circulatorio. Y esto presenta dos grandes ventajas: por un lado, evita que los fármacos actúen sobre células no deseadas y favorece que se concentren en las inmediaciones del tumor, lo que reduce los efectos secundarios del tratamiento y multiplica su eficacia; por otro, previene la degradación de los fármacos a su paso por el hígado, por ejemplo, o que se unan a proteínas plasmáticas que los dirijan hacia los riñones para ser excretados, lo que provocaría que el fármaco llegara debilitado a su destino.

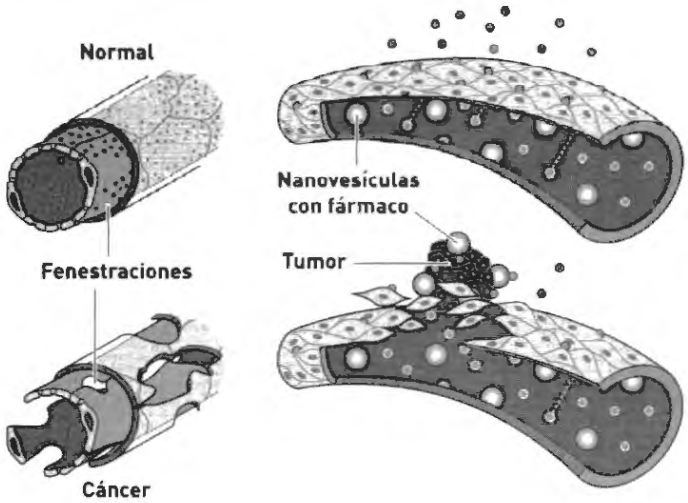
Pero ¿cómo consiguen los nanovehículos distinguir las células tumorales de las sanas? En su superficie, las células presentan características particulares según el tipo del que se trate, por lo que la estrategia que se debe seguir consiste en unir a la superficie de las micelas o liposomas moléculas que se fijen a algunos de los marcadores de la célula a la que queramos dirigir el fármaco. Se trata de un proceso que se conoce como *vectorización* y que se realiza habitualmente con anticuerpos, las proteínas del sistema inmunitario que reconocen y marcan la presencia de entes biológicos extraños al cuerpo para que los ataquen otros componentes del sistema inmunitario, cosa que hacen de forma específica. Por lo general, aunque hay excepciones, cada anticuerpo solo puede unirse a un agente agresor específico y no a cualquier otro. Esa capacidad de reconocimiento y marcaje la tienen precisamente por presentar una capacidad de unión a determinadas estructuras moleculares, o antígenos, específicas del agente agresor del que son en concreto anticuerpos, lo que hacen de manera muy selectiva y eficiente.

En la actualidad, la metodología para obtener anticuerpos específicos contra una u otra estructura está perfectamente establecida, de manera que, en principio, bastaría con conseguir unir a los liposomas o a las micelas una cantidad suficiente de anticuerpos dirigidos contra una proteína que sea característica de la célula a la que queramos llevar nuestros nanocontenedores. Esto no significa que sea sencillo, ya que hay que establecer qué proteína marcadora hay que seleccionar para cada tipo de cáncer, pues no existe una marca universal para todos los casos. Incluso en el mismo tipo de tumor, las peculiaridades de las células cancerosas pueden variar de un paciente a otro. En ocasiones solo se puede recurrir a marcadores que, sin ser específicos, son mucho más abundantes en células cancerosas que en las normales.

No obstante, no basta con dirigir el liposoma o la micela hacia las células diana. También hay que evitar que se una de manera inespecífica a otras células o que sea reconocido y destruido por el

> UNA CUESTIÓN DE TAMAÑO

Establecer el tamaño ideal de liposomas y micelas es esencial en el tratamiento contra el cáncer. Para ejercer su efecto es necesario que estos vehículos abandonen los vasos en las inmediaciones del tumor. Una de las estrategias para conseguirlo consiste en controlar el tamaño de las vesículas a fin de aprovechar una característica de los vasos sanguíneos del tumor. En un tejido normal, las arterias se ramifican y reducen hasta llegar a los capilares sanguíneos, unos vasos constituidos por una única capa de células que presenta determinados poros. Estos (denominados fenestraciones) también se encuentran en los capilares del interior de un tumor, pero debido a que este es un sistema generado de manera aberrante, sus fenestraciones son de un tamaño mayor del habitual. Por lo tanto, es importante que los nanocontenedores que transporten fármacos antitumorales puedan salir a través de las fenestraciones de los capilares del tumor, donde se podrán acumular.



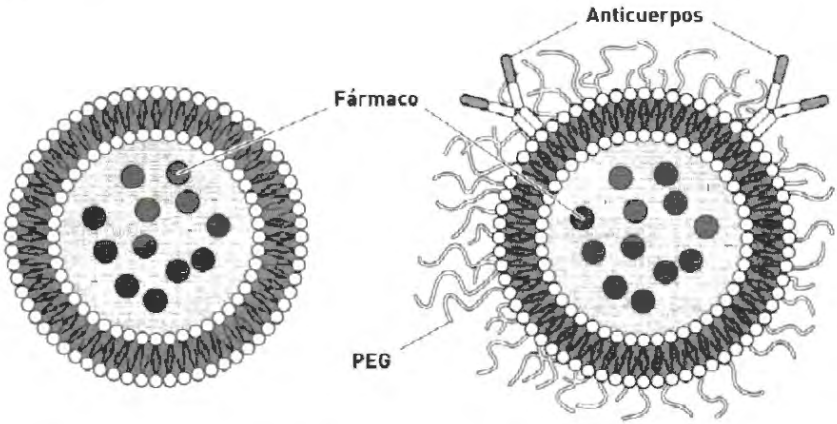
— En el capilar superior (sin tumor) solo hay fenestraciones pequeñas: las nanovesículas no pueden salir del vaso sanguíneo. En el inferior, la pared tiene fenestraciones grandes y las nanovesículas pueden salir del vaso y llegar al tumor.

sistema inmunitario. Después de todo, no dejan de ser elementos extraños al organismo y, por lo tanto, susceptibles de ser identificados y destruidos por los linfocitos, componentes del sistema inmunitario que se encargan de ello.

Evitar esta respuesta de las defensas del organismo ha obligado a añadir un segundo tipo de recubrimiento en la superficie que actúe «ocultando» los nanocontenedores con polímeros como el polietilenglicol o similares (fig. 1). Cuando los nanocontendedores se encuentren en la zona del tumor serán capturados por las células cancerosas gracias a los sistemas de unión a marcadores específicos añadidos y ya solo habrá que esperar a que los fármacos que transportan hagan su efecto.

Pero en lugar de atacar directamente las células tumorales, la nanomedicina está investigando otras estrategias más sutiles, como dirigir liposomas hacia los macrófagos tumorales, unas células del sistema inmunitario que se encuentran en el interior de los tumo-

Fig. 1



Liposoma simple (izquierda) y vectorizado (derecha). La capa superficial de polietilenglicol (PEG) lo mantiene oculto al sistema inmunológico. Los anticuerpos permiten dirigirlo contra dianas celulares específicas.

res y que tienen la capacidad de desencadenar un proceso inflamatorio o de activar la inmunidad, pero que se mantienen en un estado inactivo. La idea es usar los nanocontenedores para transportar agentes que pongan en funcionamiento estos macrófagos de manera que induzcan una respuesta inmune que ataque las células cancerosas desde el interior del tumor.

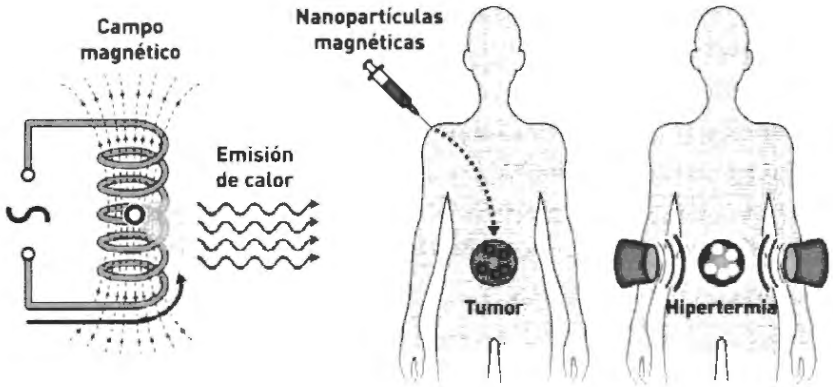
Otra opción es transportar agentes que bloqueen la generación de nuevos vasos sanguíneos. No hay que olvidar que el crecimiento de los tumores está condicionado a la generación de nuevos capilares en su interior que le aseguren un transporte suficiente de nutrientes y oxígeno. Introducir en el tumor micelas o liposomas, o sus análogos poliméricos, con agentes que bloqueen el crecimiento de los vasos sanguíneos es una manera de ahogar al tumor privándolo de los factores que necesita para seguir creciendo.

Aunque los nanocontenedores dirigibles a los tejidos de interés es un campo tremendamente atractivo, lo cierto es que aún queda camino por recorrer hasta que sea una realidad plena. Actualmente se puede incrementar la concentración intratumoral de un fármaco en alrededor de un 20 %.

Cura por calor

Transportar fármacos en nanocontenedores hasta las células malignas para que las destruyan o emplear nanovehículos que activen el sistema inmune son dos estrategias prometedoras en el campo del cáncer. Pero las opciones no acaban aquí. En el capítulo anterior ya hemos comentado que el uso de nanopartículas de óxido de hierro puede tener aplicaciones en el diagnóstico por imagen de determinados tumores. Pero también se pueden emplear para combatir el cáncer, no solo para diagnosticarlo, gracias a lo que se conoce como *hipertermia magnética* (fig. 2). El principio del proceso se basa en lo que vimos en ese mismo capítulo: las nanopartículas de

Fig. 2



La hipertermia magnética consiste en administrar nanopartículas al paciente. Estas se acumulan en el tumor, tras lo cual un campo magnético eleva su temperatura interna y destruye las células que lo componen.

óxido de hierro se comportan como un material superparamagnético. En respuesta a campos magnéticos, se orientan de determinada manera durante un cierto tiempo. Cuando se someten a campos magnéticos alternos, el movimiento de las partículas en diferentes direcciones genera calor. El resultado final es un aumento de la temperatura de la zona donde se han acumulado estas nanopartículas. Un aumento que puede llegar hasta los 60 °C, aunque en realidad se ha visto que lo más eficiente para conseguir los efectos deseados es moverse en un rango de entre 40 °C y 45 °C. A estas temperaturas, las proteínas pierden su estabilidad y su estructura se degrada. De este modo, el metabolismo celular deja de funcionar y las células del tumor tratado con las nanopartículas mueren.

El control de la temperatura conseguida depende del tamaño de las nanopartículas y de la frecuencia del campo magnético aplicado, pero la eficacia del tratamiento vuelve a depender de un eficiente

transporte de esas nanopartículas hasta el tumor. Por otra parte, se están desarrollando variedades de esta tecnología usando partículas de oro estimuladas por luz láser. Esto tiene la ventaja de que, aunque el reparto de las nanopartículas no sea eficaz al cien por cien, si el estímulo para activarlas se enfoca a la zona tumoral, las partículas residuales presentes en otras partes del cuerpo no modificarán su temperatura y no tendrán ningún efecto indeseado. En general, esta técnica terapéutica se plantea como un sistema que aplicar en combinación con otros más convencionales, como la radioterapia.

DIABETES O CÓMO CONTROLAR LA INSULINA

En otras patologías diferentes al cáncer no es tan relevante el *dónde* actuará el fármaco como el *cuándo* lo hará. Esto es lo que pasa en el caso de la diabetes, una patología que no está centrada en un órgano concreto, sino que afecta a todo el organismo. Como ya hemos comentado, en condiciones normales, el páncreas secreta insulina en respuesta a un aumento de glucosa en sangre. La insulina es la hormona que induce la captación de la glucosa por las células, de manera que, cuando se genera, los niveles de glucosa en sangre disminuyen. Cuando esto pasa, la síntesis de insulina se detiene.

La diabetes puede ser causada por diferentes motivos, pero una de las formas más conocidas, la diabetes tipo 1, está relacionada precisamente con un problema en el páncreas, que no genera insulina o fabrica una insulina no funcional. En este caso, el tratamiento consiste en la administración de insulina para suplir este déficit.

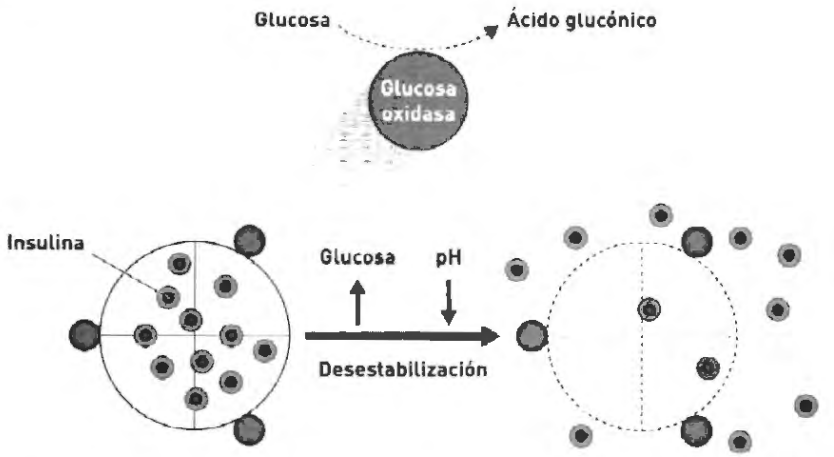
Aunque en el caso de los pacientes diabéticos la administración de insulina representó un avance terapéutico formidable, ya que permite inducir el transporte de glucosa hacia el interior de las células, hay que tener en cuenta que el patrón de administración nunca es tan preciso como en la respuesta fisiológica normal: la administración de insulina mediante inyecciones hace que en de-

terminados momentos la cantidad de insulina sea muy elevada y en otros sea demasiado baja. Lo que se necesita es un sistema que detecte los niveles de glucosa y, cuando estos aumenten, desencadene una administración de insulina.

La estrategia de la nanomedicina para resolver este problema se basa en estructuras que, dependiendo de las condiciones del ambiente donde se encuentren, o se mantienen cerradas o se abren y liberan su contenido. Para ello se han diseñado sistemas de nanopartículas hechas con polímeros que son sensibles a la cantidad de glucosa que haya en el medio. Esto se puede conseguir de diferentes maneras. Por ejemplo, con un polímero que se mantenga cerrado en las condiciones ligeramente alcalinas habituales en la sangre, pero que se desestabilice en condiciones ácidas. Un sistema así fue publicado por científicos del Instituto de Tecnología de Massachusetts en 2013. Las nanopartículas eran de dextrano, un polisacárido, es decir, una cadena polimérica de azúcares simples, en el caso del dextrano de glucosa. Las partículas, cargadas con insulina, se inyectan en el cuerpo de modo que se mantengan unidas como red de nanopartículas, lo que se consigue dándoles a algunas carga eléctrica positiva y a otras carga negativa. La presencia de glucosa no modifica, por sí sola, la acidez del medio, pero esas nanopartículas de dextrano llevan incorporada una enzima (una macromolécula que actúa como catalizador, como acelerador, de alguna reacción bioquímica del organismo), la glucosa oxidasa, que transforma la glucosa de la sangre en ácido glucónico. La generación de este ácido, que solo tendrá lugar cuando la cantidad de glucosa circulante en la sangre aumente de manera suficiente, modifica el pH de manera que la nanopartícula se desestabiliza y libera la insulina (fig. 3).

Otros sistemas similares no usan los cambios de acidez, sino que se sustentan en uniones químicas que se ven debilitadas directamente por la presencia de glucosa. Es el caso de un sistema propuesto en 2013 de administración de insulina mediante parches de nanofibras situados bajo la lengua. Esas nanofibras son de un mate-

Fig. 3



Las nanopartículas que contienen insulina se desestabilizan en condiciones ácidas. La glucosa oxidasa de la superficie genera un ácido cuando hay glucosa, lo que permite la liberación de la insulina.

rial de los llamados compuestos. Los componentes en este caso son polímeros de tipos distintos, uno de ellos derivado del alginato, un polisacárido de las algas pardas. Las nanofibras están electrotejidas (los hilos tienen cargas eléctricas distintas) y llevan atrapada insulina. Las uniones que mantienen estable la estructura dependen de la interacción entre una molécula de glucosa que forma parte de la estructura de una fibra y una molécula receptora presente en la fibra adyacente. Cuando la glucosa circulante en sangre aumente, la molécula receptora de las fibras podrá unirse a la glucosa del paciente en lugar de hacerlo a la de las fibras del contenedor, de manera que la estructura se separará y el contenido de insulina se liberará. En todos los casos, el resultado final es que cualquier aumento en la concentración de glucosa en sangre genera inmediatamente una liberación de insulina, emulando de manera mucho más ajustada el control de los niveles de azúcar ejercido por el cuerpo.

Por supuesto, una cura definitiva de este tipo de diabetes pasaría por la reparación de los genes alterados que impiden la síntesis correcta de la insulina. Aunque se trata de una forma diferente de abordar la enfermedad, la nanomedicina también tiene cosas que aportar a ella.

LAS ENFERMEDADES GENÉTICAS Y LA REPARACIÓN DE LOS GENES

Muchas enfermedades tienen un origen genético, es decir, están programadas en nuestros genes. En 1953 se estableció la estructura del ADN, una doble hélice en la que cada una de las dos cadenas estaba formada por una secuencia de unidades, denominadas nucleótidos, que podían ser de cuatro tipos diferentes. El orden en el que se disponen estos cuatro nucleótidos en la cadena contiene la información para la fabricación de proteínas. Las mutaciones en esta secuencia son la base de muchas enfermedades genéticas.

En el año 2003, el Proyecto Genoma Humano anunciaba que había descifrado todo el genoma (el conjunto de genes) del ser humano. Esta iniciativa internacional había logrado uno de los mayores hitos de la medicina porque con esta información se ha podido establecer o confirmar la base molecular de miles de enfermedades genéticas, causadas por un error en la secuencia de nucleótidos que forma el ADN. En muchos casos, un único cambio en una secuencia de miles de nucleótidos de un gen conlleva que la proteína para la que codifica se sintetice de manera incorrecta y pierda la funcionalidad. Esto hace que alguna vía metabólica importante no se ejecute correctamente y las funciones que dependen de esa vía en particular queden comprometidas. Tal vez uno de los ejemplos más conocidos de este tipo de enfermedades sea la fibrosis quística, en la que una mutación en el gen que codifica la síntesis de una proteína que transporta cloro hace que este pierda su función, por

lo que el equilibrio de iones a un lado y otro de la membrana celular se ve modificado. Esta alteración tiene diferentes consecuencias, entre ellas una alteración en la síntesis y procesado de los mucopolisacáridos, las sustancias mucosas que recubren conductos como los bronquios, el conducto pancreático y otros. Estos mucopolisacáridos devienen más abundantes y espesos de lo que sería normal y la consecuencia es la obturación de las vías respiratorias o del flujo pancreático. Todo ello por una única modificación en un punto determinado del gen del transportador de cloro.

Al encontrarse el origen de la enfermedad en una alteración del ADN, la manera de curar este tipo de enfermedades consiste en reemplazar la secuencia defectuosa por su equivalente sin la mutación. En la práctica esto implica introducir en el núcleo de la célula un fragmento de ADN correspondiente a la versión correcta del gen defectuoso, y actuar sobre el ADN para que el gen original, murado, sea reemplazado por el nuevo gen funcional. Aunque en la actualidad ya se dispone de la metodología para realizar la sustitución, el problema principal consiste en transportar el ADN hasta las células correspondientes e introducirlo en su interior.

El transporte de los genes

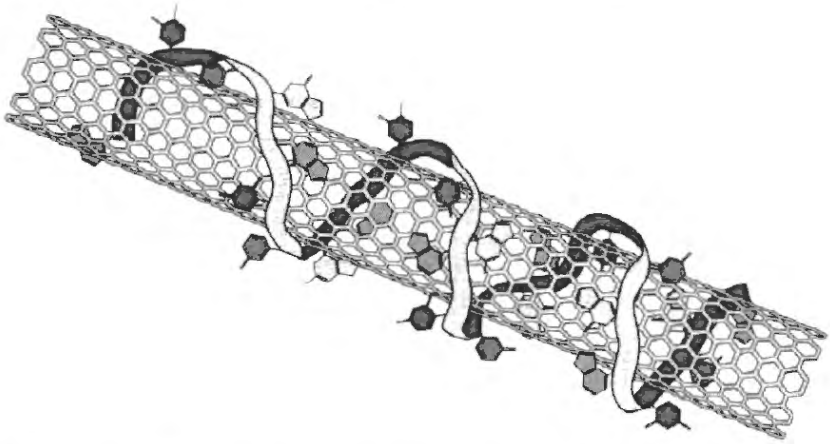
Una de las herramientas que se está investigando con este fin son virus convenientemente modificados. Después de todo, un virus es un sistema especializado en unirse a determinadas células e introducir su ADN en el interior de las mismas. La estrategia consiste en tomar determinados tipos de virus, reemplazar su genoma por el ADN que pretendemos introducir y finalmente administrar estos virus modificados para que infecten las células con los genes sanos. El principal riesgo de esta aproximación es que no todos los virus queden correctamente modificados y alguno mantenga su material genético y, por ende, su capacidad infecciosa. Aunque en la mayo-

ría de los casos se trata de virus que causan patologías menores, en pacientes que ya están afectados por una enfermedad genética, incluso un proceso infeccioso leve puede causar complicaciones importantes. Por otra parte, no dejan de ser virus, y el sistema inmunitario responde de una manera extremadamente potente frente a la administración de estas partículas, que en su mayor parte terminan siendo destruidas antes de llegar a su objetivo.

> Los virus pueden ser considerados nanomáquinas de la naturaleza cuyas piezas la terapia génica adapta a sus necesidades.
>
> LETICIA ARREGUI

Pero el ADN también puede ser transportado aprovechando las características de uno de los materiales estrella de la nanotecnología: los nanotubos de carbono. De entrada, esta podría parecer una opción poco interesante, pues aunque la estructura molecular de los nanotubos los hace extraordinariamente resistentes, son también poco solubles en agua, además de que resulta muy complicado unirles el ADN. Para solucionar estos inconvenientes es necesario modificar la superficie de los nanotubos añadiéndole una determinada cantidad de grupos químicos que presentan carga positiva. De esta manera se consigue que el nanotubo se pueda disolver fácilmente en una solución acuosa, como el plasma o el medio celular (la solubilidad en agua depende de que las moléculas de la sustancia en cuestión presenten una cierta separación en su estructura entre cargas eléctricas negativas y positivas, como ocurre con la propia molécula de agua, con lo que se pueden crear los lazos entre aquellas y estas propios de una disolución). Pero, además, la presencia de cargas positivas en la superficie del nanotubo hace que las moléculas de ADN se adhieran fácilmente a ella (fig. 4). Esto es debido a que el ADN es una molécula con cargas negativas debido a la presencia de grupos fosfato en su composición. Estos nanotubos modificados químicamente, denominados *nanotubos de carbono funcionalizados* o f-CNT, pueden actuar de manera muy eficiente como transportadores de

Fig. 4



Molécula de ADN unida a un nanotubo de carbono. La hélice se enrolla en el nanotubo y lo aprovecha como vehículo para llegar a su destino.

genes, ya que el ADN al que los expongamos se adherirá a su superficie y será transportado sin problemas en el medio acuoso hasta las células diana. Los f-CNT también pueden atravesar la membrana celular sin causar daños y, por supuesto, sin el riesgo de infección que se corría al usar virus como transportadores.

Una opción que se plantea la terapia génica consiste en obtener cierta cantidad de células del paciente (habitualmente de la médula ósea o de la sangre), reemplazar los genes defectuosos tratando estas células en las placas de cultivo celular del laboratorio y, una vez completada la sustitución del gen defectuoso por la versión correcta, reintroducirlas en el paciente. La idea es conseguir que estas células «sanadas» se multipliquen por sí solas y generen suficiente cantidad de la proteína defectuosa como para compensar los efectos de su ausencia.

Aunque este método facilita la manipulación de las células, no resulta aplicable en muchos casos por la imposibilidad de obtener

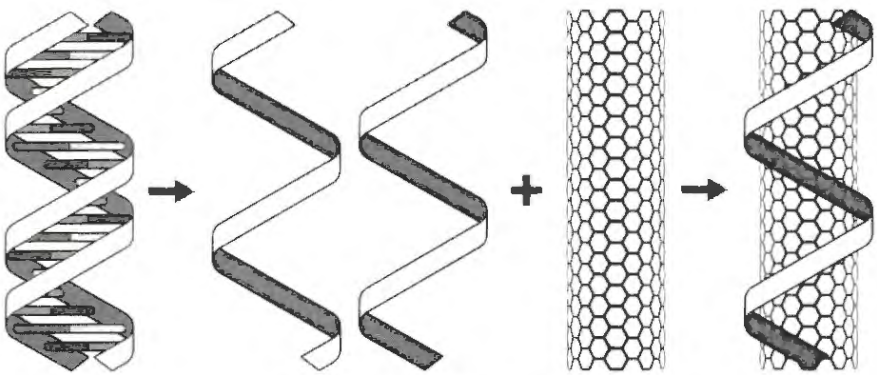
las células implicadas en la patología. Un ejemplo de ello es la fibrosis quística, que afecta de manera particular a las células de los bronquios. Por tanto, de lo que se trata aquí no es de extraer células, repararlas y reimplantarlas, sino de transportar los genes reparados hasta las células del propio organismo. Aunque se podría intentar transportarlos de manera inespecífica por todo el cuerpo para intentar reparar la mayor cantidad posible de células, en la práctica esto no es necesario y, de hecho, constituye una pérdida importante de rendimiento (téngase presente que todos los genes están en todas las células, pero no se activan todos en cada una). Lo que interesa es actuar sobre aquellas células cuyo mal funcionamiento es el responsable de la patología. Para conseguirlo se requiere añadir a los f-CNT alguna molécula marcadora, que de nuevo serán anticuerpos o diferentes tipos de receptores, proteínas que se conectan en la superficie de las células a otras moléculas determinadas. Resulta evidente que la eficacia del tratamiento estará condicionada, en buena medida, por la especificidad de estos marcadores, ya que de ello depende el número de células a las que podremos transferir los genes reparados. Por otro lado, es igualmente importante evitar que los f-CNT se unan a células o estructuras que no interesen, o que se vean capturados por células del sistema inmunitario, ya que el rendimiento de transferencia a las células diana disminuiría considerablemeute. Esto requiere un mayor grado de modificación de los nanotubos, seleccionando cuidadosamente el tipo de moléculas que se distribuirán por su superficie.

COMBATIR LAS INFECCIONES

Una parte importante de las patologías está relacionada con infecciones de todo tipo. Con la llegada de los antibióticos se pudo poner freno, temporalmente, a las infecciones causadas por bacterias, pero estos fármacos van perdiendo eficacia a medida que van

> CON UNA COPIA BASTA

El ADN está formado por una doble hélice de dos cadenas de información genética entrelazadas. Una de las dos contiene la información genética que se emplea para la fabricación de proteínas, mientras que la contraria actúa como una copia en «negativo» de la primera. Aunque esta no contiene directamente la información, permite que, cuando la célula se divide, el ADN se duplique por medio de un mecanismo en el que las dos cadenas se separan y se usa cada una de ellas como molde para sintetizar la opuesta. Esto hace que no sea preciso unir la doble hélice completa a los nanotubos de carbono. Basta con una de las dos cadenas ya que, con ella, la célula receptora podrá sintetizar la cadena opuesta y rehacer la doble hélice completa. Puesto que la unión entre las dos cadenas se mantiene por unos enlaces químicos débiles, los *puentes de hidrógeno*, la separación de las dos cadenas de ADN se puede conseguir aumentando la temperatura. A continuación, se ponen en contacto con los nanotubos de carbono funcionalizados con grupos cargados positivamente (como el -NH3+) para facilitar la unión de la cadena de ADN gracias a la atracción electrostática con los grupos fosfato (-PO4-) del ADN.



— Un aumento de temperatura basta para separar las dos cadenas que forman la doble hélice del ADN. Una de ellas se puede unir entonces fácilmente a un nanotubo de carbono cargado positivamente.

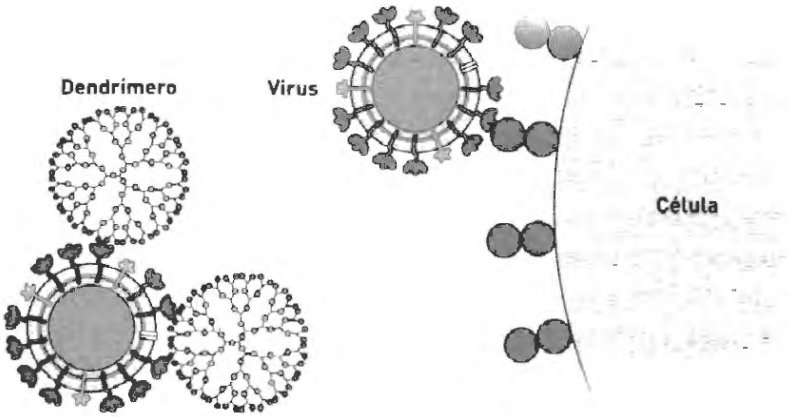
apareciendo cepas bacterianas resistentes a ellos. Por otra parte, los antibióticos no tienen ningún efecto sobre los otros grandes enemigos microscópicos: los virus.

El gran problema con las infecciones víricas es que estos organismos presentan una simplicidad tan extrema que ofrece muy pocos puntos de actuación terapéutica. Los virus no tienen metabolismo (el motor interno con el que cuentan nuestras células), de manera que no podemos interferirlo. Fuera de las células no se multiplican, de manera que no podemos bloquear su división. No incorporan ni excretan ningún producto, y por tanto no hay por dónde interferir su funcionamiento. Ante la escasez de opciones, el punto clave consiste en impedir que alcancen las células diana, ya que si el virus no puede introducirse en una célula que disponga de maquinaria para replicar el ADN y para sintetizar más partículas víricas, la infección no puede prosperar. Pero para conseguir unirse a una célula e infectarla, el virus presenta en su superficie una serie de proteínas con capacidad para reconocer y unirse a determinadas proteínas o estructuras de la célula. Esas proteínas de la superficie vírica son el punto débil que la nanomedicina pretende explotar.

La estrategia consiste en diseñar dendrímeros a los que se ha unido, en los extremos de sus ramificaciones, moléculas con capacidad para unirse a los puntos de anclaje de los virus (fig. 5). En muchos casos se puede usar la misma estructura que presentan las células, como diferentes grupos sulfonato o el ácido siálico. De esta manera, en lugar de unirse a las células, el virus se unirá a los dendrímeros y perderá la capacidad de infectar más células. Este es un principio similar al que usan los anticuerpos específicos contra el virus, pero mientras que un anticuerpo dispone únicamente de dos puntos de unión, un dendrímero puede presentar docenas de ellos.

Los dendrímeros también pueden adaptarse para que tiendan a adherirse a diferentes familias de bacterias. No obstante, en este

Fig. 5



Los dendrímeros dirigidos contra las proteínas de unión de los virus pueden bloquear su captación por las células, frenando así la propagación de la infección.

caso no basta con unirse al agente patógeno, sino que es necesario algo más para conseguir terminar con la infección. Aunque a la bacteria se le hayan adherido dendrímeros, podrá seguir excretando toxinas y puede continuar dividiéndose. Las estrategias pasan por aprovechar las múltiples ramificaciones del dendrímero para unir a algunas de ellas diferentes moléculas que tengan la capacidad de afectar a las bacterias. Un ejemplo exitoso han sido los donantes de óxido nítrico. Este agente participa en diversas funciones biológicas importantes, pero cuando su concentración aumenta más allá de determinados niveles presenta un importante nivel de toxicidad. Por ello, algunas células del sistema inmunitario usan la generación de óxido nítrico precisamente para destruir microorganismos. Aunque el mecanismo celular para generar este óxido nítrico es de gran complejidad, existen moléculas, denominadas NONOatos, que a través de reacciones químicas más simples van generando óxido nítrico (cuyo símbolo químico es NO, de ahí

el nombre de los NONOatos) de manera espontánea durante cierto tiempo. Los dendrímeros funcionalizados para que se unan a bacterias y que transportan además NONOatos generan una liberación de cantidades tóxicas de óxido nítrico que puede actuar sobre la bacteria a la que se han unido. Para optimizar estos efectos hay que controlar el tipo de NONOato seleccionado, ya que este puede liberarse rápidamente, de manera que se alcanzan concentraciones elevadas pero durante períodos muy breves, o puede liberarse más despacio, con niveles de toxicidad menores pero más mantenidos en el tiempo. Por otra parte, la longitud de las cadenas de los dendrímeros también es un factor que tener en cuenta, ya que se ha visto que cuanto menores son los brazos de la estructura, mayor es el efecto bactericida conseguido.

Aunque el potencial de los sistemas desarrollados por la nanomedicina resulta impresionante, la mayoría de estos sistemas están en fase de desarrollo preclínico. No obstante, quizá no pase mucho tiempo antes de que tomar un medicamento que no esté dirigido a su lugar de actuación nos parezca un proceder completamente desfasado. En cualquier caso, el hallazgo de la causa de una enfermedad y su eliminación no es siempre el final de la intervención médica. Reparar lo que ha quedado dañado también puede ser necesario. En el capítulo siguiente veremos qué ofrece la nanomedicina en ese ámbito.

04

POTENCIANDO LA REGENERACIÓN

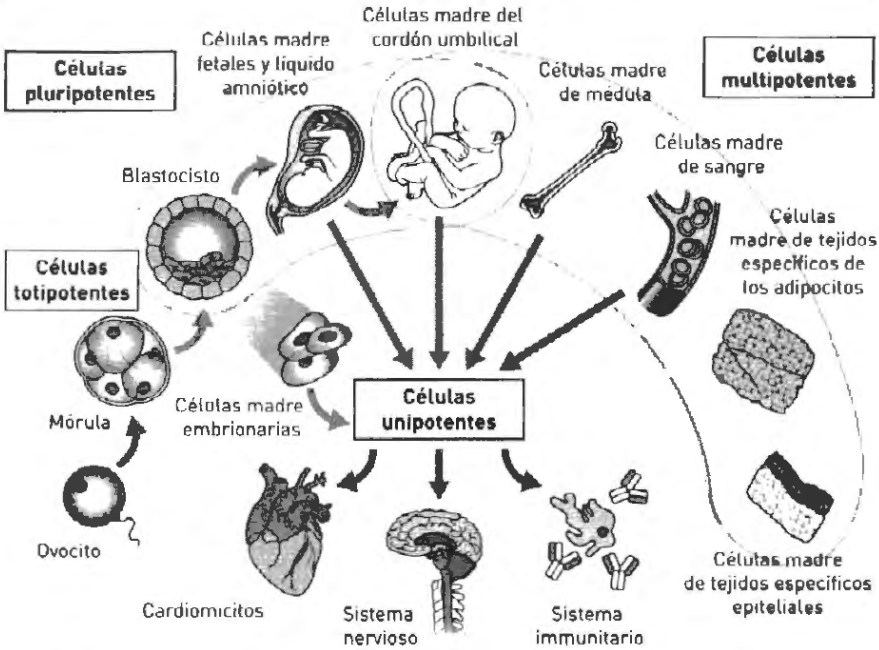
La función de la medicina no termina hasta que el organismo está completamente recuperado tras superar una enfermedad. Los procesos de regeneración del tejido son la parte final que permite restablecer la correcta funcionalidad y aunque el cuerpo dispone de capacidad para regenerar parte de su estructura, en muchos casos se requiere la aplicación de tecnología adicional.

La medicina regenerativa se ha definido como aquel proceso por el que se generan tejidos funcionales para reparar o reemplazar órganos cuya función se ha perdido por causa de enfermedades, la edad, daños o defectos congénitos. Algunos animales disponen de una enorme capacidad para regenerar diferentes partes de su cuerpo. Una estrella de mar, por ejemplo, puede reconstruirse por sí sola a partir de uno de sus brazos. Las lagartijas pueden regenerar la cola y las salamandras, reemplazar una extremidad amputada. En el extremo opuesto, las aves apenas disponen de esa capacidad. Por otra parte, en los mamíferos la capacidad de regeneración, aunque limitada, se da en cierto grado. En el caso concreto de los seres humanos se restringe a unos pocos órganos. El hígado es, tal vez, el que presenta una mayor capacidad de regeneración, pero esta se encuentra igualmente en la piel, en los huesos, en la sangre o en las mucosas. Por supuesto, también en estructuras como el pelo o las uñas, cuya importancia clínica es menor, aunque su relevancia a nivel psicológico no sea desdeñable.

Para que tenga lugar la regeneración de diferentes tejidos se requiere la presencia y activación de células que aún no poseen las ca-

racterísticas de las células que se deben sustituir, pero que pueden llegar a tenerlas gracias a un proceso espontáneo del organismo: son las células madre adultas, también llamadas *somáticas*. Las primeras células en las que se va dividiendo un óvulo fecundado son células madre (fig. 1), pero con una capacidad de transformación mucho mayor que la de las células madre del organismo maduro: todas ellas son iguales, indiferenciadas, y, sin embargo, se pueden convertir en cualquier tipo de célula del organismo, tal y como luego irá ocurriendo a lo largo del desarrollo embrionario y de la placenta. Se dice por eso que son totipotentes. Cuando se desarrolla una cavidad

Fig. 1



Las células totipotentes se pueden convertir en cualquier célula del organismo; las pluripotentes también, excepto en las de la placenta; las multipotentes, solo en determinados tipos, mientras que las unipotentes solo en uno.

en esa masa de células y se diferencian las que a continuación van a dar lugar a la placenta; las otras, que ocupan el espacio interior de esa estructura, llamada *blastocisto*, siguen pudiendo transformarse en cualquier tipo de célula del futuro organismo, aunque ya no en las de la placenta: se las llama pluripotentes. En cultivo, estas células embrionarias pueden reproducirse indefinidamente sin perder su pluripotencia.

Las células madre presentes en el organismo adulto, en cambio, solo son multipotentes: pueden transformarse solo en determinados tipos de células. Y una vez transformadas en una célula diferenciada, con una determinada morfología y función, una neurona, por ejemplo, o una célula de la sangre o de los músculos, no pueden ya transformarse por sí mismas en nada más.

Todas las células tienen todos los genes, pero solo se transcriben en proteínas algunos de ellos, según el tipo de célula. La diferenciación de las células madre, por lo tanto, consiste en una modificación del programa de transcripción del genoma para que al final produzcan las proteínas del órgano o tejido correspondiente a la versión diferenciada de la célula.

Las células se van renovando en la mayor parte del cuerpo. Las células adultas pueden reproducirse en células iguales a ellas mismas. Pero cuando se han producido daños en los tejidos a veces han de intervenir las células madre. Cuando se requiere la regeneración de un tejido para el que no hay estas células madre especializadas o cuando el daño ha causado la pérdida de esta reserva de células con capacidad regeneradora, la reconstrucción simplemente no tiene lugar.

Esto representa un problema en situaciones en las que se ha producido una pérdida de tejido lo suficientemente importante como para comprometer su correcto funcionamiento. Un infarto puede necrosar parte de las células del corazón, comprometiendo seriamente su funcionamiento; una embolia puede causar la muerte de una cantidad importante de neuronas, con lo que algunas funciones cerebrales quedarán perdidas definitivamente. Incluso una quema-

dura lo bastante grave como para dañar las capas más profundas de la piel, donde residen las células con capacidad de regeneración, puede dejar cicatrices que ya no serán reconstruidas por el proceso natural de regeneración epitelial.

> El siglo XX fue el del desarrollo de los trasplantes de donantes. El XXI será el de los trasplantes de órganos generados a partir de las propias células.
>
> ANTONIO ALCARAZ

Durante mucho tiempo no se dispuso de alternativas terapéuticas reales para resolver estos cuadros clínicos. Desde que a finales de la última década del siglo XX se empezaron a cultivar células madre embrionarias humanas (por lo general procedentes de los embriones no utilizados en las clínicas de maternidad asistida), se pudo por fin empezar a pensar en remediar situaciones como esas, introduciendo de una manera oportuna esas células capaces de transformarse en cualesquiera otras en el organismo enfermo o lesionado de modo que se conviertan precisamente en las células que se necesiten en el lugar donde se necesiten. Sin embargo, para obtener las células que luego se cultivan hay que destruir el embrión, lo cual genera un importante conflicto ético y tropieza con considerables barreras políticas y burocráticas. Pese a ello, existen ya numerosas líneas de células cultivadas en el laboratorio a partir de células madre embrionarias.

Por otra parte, esas células son cuerpos extraños al organismo y pueden activar el sistema inmunitario de este, que intentará destruirlas. Una medicación inmunosupresora puede abordar el problema, pero mejor sería no tener que enfrentarse al sistema inmunitario. Una forma de lograrlo sería con células embrionarias humanas clónicas, es decir, obtenidas a partir de células diferenciadas del propio paciente. En 1958, el biólogo británico John Gurdon clonó ranas extrayendo de un óvulo de rana su núcleo celular (la parte de una célula donde se encuentran los cromosomas con el ADN) y poniendo en su lugar el de una célula ya diferenciada del

epitelio (del recubrimiento) de intestino de renacuajo. La actividad de ese núcleo adquirió una nueva programación: ya no sintetizaba las proteínas de una célula de epitelio, sino que la nueva célula era pluripotente. De este modo, Gurdon logró que naciesen renacuajos genéticamente idénticos al donante. Este procedimiento, llamado de *transferencia nuclear*, es el que más tarde se emplearía para clonar a la oveja Dolly. En 2013, un grupo de una universidad de Oregón consiguió obtener células madre embrionarias humanas a partir de un embrión humano clonado. El procedimiento, no obstante, sigue siendo azaroso; solo en raras ocasiones se logra el resultado querido, y los conflictos éticos y políticos no son precisamente menores que cuando las células madre no son clones. Tampoco es sencillo contar con los suficientes óvulos humanos.

La situación cambió radicalmente cuando el investigador japonés Shinya Yamanaka, que obtendría por ello el Premio Nobel en 2012 compartido con Gurdon, descubrió en 2006 la manera de reprogramar células diferenciadas de un adulto para restituirles la capacidad de transformarse en cualquier tipo de célula.

Yamanaka logró la reprogramación de una célula adulta de la piel de un ratón solo con transferirle, por medio de un virus, cuatro genes: de diferenciada se convirtió en pluripotente (poco después lo conseguiría con células humanas). Los genes que introdujo codificaban factores de transcripción, es decir, proteínas cuya función es la de regular la transcripción de genes en ARN (el primer paso hacia la construcción de proteínas dentro de las células) mediante su unión a secuencias específicas de ADN cercanas a esos genes; de esos cuatro factores de transcripción, en concreto, se sabía que desempeñaban un papel en la pluripotencia de las células embrionarias y por eso se los escogió, tras múltiples pruebas con alrededor de veinte genes.

En 2009 se logró el mismo objetivo de forma más segura transfiriendo directamente los cuatro factores de transcripción codificados por los cuatro genes de Yamanaka (que tienen un potencial

cancerígeno y en el método original quedan permanentemente introducidos en las células, de ahí que sea más seguro introducir los factores directamente). Para ello se los ligaba a un péptido (una cadena de monómeros de aminoácido, los ladrillos de las proteínas), la pliarinina, que puede hacer que la molécula asociada atraviese la membrana.

Se tenía, por lo tanto, un método para obtener cualquier tipo de célula del cuerpo a partir de meras células de la piel. La idea terapéutica consiste entonces en trasplantar las células madres así obtenidas al tejido correspondiente, para que generen las células diferenciadas encargadas de la regeneración, sin riesgo, en principio, de rechazo inmunitario; pero una cosa es obtener células que se pueden convertir en cualquier célula y otra conseguir que se conviertan en lo que se quiere que se conviertan donde se quiere que lo hagan. Los avances en esta dirección, que sería revolucionaria para la medicina, están siendo lentos. Todavía queda por sortear el riesgo de que las células madre así inducidas no adquieran, al diferenciarse de nuevo, las características del tejido que deseamos regenerar, que crezcan sin mantener correctamente las características estructurales necesarias y den lugar a órganos deformes o no funcionales, e incluso que algunas células madre produzcan crecimientos inespecíficos similares al cáncer.

Otro campo donde el posible uso de células madre, no necesariamente obtenidas mediante reprogramación, es prometedor es el de las lesiones óseas. La nanotecnología está llamada a desempeñar en él un papel esencial.

ANDAMIOS PARA REGENERAR HUESOS

El hueso es una estructura que constantemente se está reconstruyendo gracias a la actividad de dos tipos de célula muy específico. En primer lugar actúan los osteoclastos, un tipo celular encargado

> YAMANAKA Y LAS CÉLULAS MADRE

— Yamanaka, Premio Nobel de Medicina en 2012.

Nacido en Higashiōsaka en 1962, Shinya Yamanaka es uno de los nombres de referencia a la hora de hablar de células madre. Tras estudiar Medicina en la Universidad de Kobe y especializarse en Cirugía Ortopédica en la de Osaka, a partir de la década de 1990 se consagró a la investigación. Lo empujó a ello el descubrimiento casual, mientras trabajaba en el Instituto Gladstone de Enfermedades Cardiovasculares de San Francisco (Estados Unidos), de un gen relacionado con las células madre. La idea de que cualquier ovocito fecundado puede desarrollarse y convertirse en un ser humano lo llevó a profundizar en ese campo. Su mayor logro tuvo lugar en 2006, cuando a partir de células adultas obtenidas de la piel de ratones consiguió generar células madre pluripotentes con unas características que hasta entonces se creía que eran exclusivas de las células madre embrionarias. En otras palabras, había encontrado la fórmula de reprogramar células adultas para convertirlas en otras capaces de transformarse en cualquier tipo de célula especializada. Llamó a su hallazgo *células madre pluripotentes inducidas* (iPS en sus siglas en inglés). Seis años más tarde recibió, junto con el británico John Gurdon, el Premio Nobel de Medicina por «unos descubrimientos que han revolucionado nuestra comprensión de cómo se desarrollan las células y los organismos», en palabras del comité encargado de conceder tal galardón.

de digerir y degradar el hueso. Actuando de manera contraria, es decir, reconstruyendo el hueso, está otro tipo celular, los llamados osteoblastos. El estado final del esqueleto depende del correcto equilibrio entre las actividades de estas dos poblaciones celulares.

El material del hueso es sobre todo una matriz de fibras de colágeno (una sustancia proteínica) entrecruzadas y mineralizadas con sales, lo que le confiere su dureza y rigidez. Los osteoblastos segregan el colágeno y las sales (en especial un fosfato cálcico denominado hidroxiapatita). Se van formando así capas de fibras de colágeno que se disponen en paralelo en cada capa, pero de forma que en cada una de ellas la dirección de su alineamiento es distinta, con lo que se forma una red de fibras apiladas entrecruzadas; en los poros o intersticios que quedan entre esas fibras entrecruzadas, de tamaño nanométrico, se depositan los cristales de hidroxiapatita, que mineralizan y endurecen la estructura, convertida así en dura corteza de hueso. Esta se va formando alrededor de los osteoblastos, que acaban por quedar atrapados dentro de la matriz endurecida que ellos mismos han generado. Sufren entonces una transformación: se convierten en osteocitos, unas células muy ramificadas que ya no participan en la construcción del hueso, pero sí en la regulación de la actividad de los osteoblastos y osteoclastos.

Los osteoblastos proceden en el organismo de células madre multipotentes. En ese caso se trata de las células madre mesenquimales; esta denominación abarca a las que se pueden transformar en las células de distintos tejidos conectivos (aparte del hueso, los cartílagos, por ejemplo, o los músculos). Como es habitual en las células madre adultas, no están repartidas por todo el tejido que pueden reproducir; las que se convertirán en osteoclastos están sobre todo en los recubrimientos del hueso.

Cuando se rompe un hueso, se reclutan en el lugar de la ruptura (mediante diversas formas de señalización celular) células madre mesenquimales, que se transforman no solo en osteoblastos cons-

tructores de hueso, sino también en condrocitos, células constructoras de cartílago, en este caso del tipo de cartílago conocido como hialino, que forma una matriz que ayuda a la reconstrucción del hueso.

A la hora de aplicar células madre que han de convertirse en osteoclastos para la reparación de un hueso también conviene contar con una matriz o «andamio» artificial que imite lo más posible la matriz natural del hueso. Con ella se pueden instalar los osteoblastos de manera que interaccionen más eficientemente entre ellos y lo hagan en la dirección adecuada, consiguiendo una mejor reparación del tejido del hueso.

El andamio artificial de nanofibras se hace con polímeros biodegradables, en especial el PLA (ácido poliláctico, constituido por cadenas con muchas moléculas de ácido láctico unidas entre sí), o con copolímeros de ácido láctico y glicólico (PLGA), que combinan el ácido láctico y el ácido glicólico en su estructura. Son estructuras que presentan la ventaja de ser biocompatibles y biodegradables, de manera que con el tiempo terminarán por desaparecer. El aspecto, una vez tejidas las microfibras mediante la técnica llamada *electrospinning*, recuerda al algodón. Se ha sugerido que resulta ventajoso reforzarlas con nanotubos porque tienen unas propiedades mecánicas muy adecuadas; pueden hacerse tanto con carbono como con dióxido de titanio.

En principio se pensó que esta estructura sería suficiente para establecer en ella las células que habrán de regenerar el tejido, pero se ha visto que el rendimiento mejora notablemente si el material polimérico del andamio incorpora nanopartículas sintéticas de hidroxiapatita, el mismo mineral segregado por los osteoblastos. El motivo es que la presencia de este compuesto crea un microambiente mucho más similar al de la estructura ósea definitiva y facilita la unión de las células a la matriz. Las células podrían ser células mesenquimales extraídas del relleno del hueso bajo la corteza dura, la médula ósea, o del tejido adiposo, y pueden ser células madre embrionarias o células pluripotentes inducidas a partir de las células de la piel.

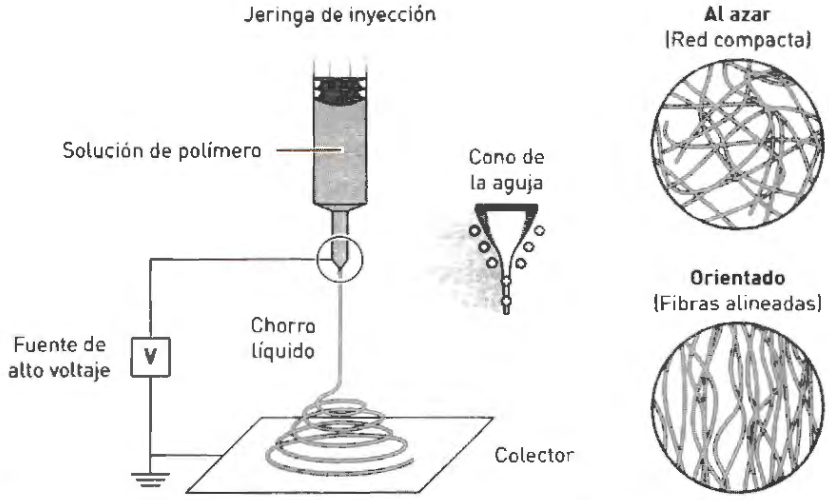
En todos los casos, estas estructuras se sintetizarían en el laboratorio y se sembrarían en ellas las células. Cuando las células estén insertadas en la matriz en la cantidad necesaria, toda la estructura se depositará en la zona del hueso que ha de ser regenerada. En condiciones normales, un hueso dañado se repara creciendo a partir de la superficie dañada y aumentando el tejido reparado capa a capa, de manera secuencial. En cambio, la incorporación en la zona lesionada de una matriz tridimensional con las células generadoras de nuevo hueso repartidas homogéneamente permitiría que el crecimiento tuviese lugar de manera simultánea a lo largo de todo el volumen de tejido que hay que reconstruir, de manera que la curación sería mucho más rápida y el tejido regenerado ocuparía exactamente el lugar que corresponde.

El sistema aún permite mayor sofisticación. Por ejemplo, en la misma matriz en la que se depositan las células que regenerarán el tejido se pueden incorporar nanocontenedores cargados con antibióticos para que los vayan liberando lentamente y así prevenir infecciones en el implante (fig. 2). Por otra parte, también se puede acelerar el proceso añadiendo contenedores cargados con *factores de crecimiento*, es decir, con proteínas de algún tipo que estimulen la proliferación de las células. En condiciones normales, el cuerpo ya genera una cierta cantidad de estos factores de crecimiento, pero el hecho de añadirlos a la matriz puede aumentar su concentración y hacer que la regeneración sea más rápida. En el caso de usar células madre procedentes de otros tejidos, normalmente el tejido adiposo, también resultaría importante añadir los agentes encargados de conducir su transformación hacia células del hueso.

Un caso particular es el cartílago, ya que aunque forma parte de la estructura del esqueleto y participa, como acabamos de ver, en la reconstrucción de un hueso roto, el material que lo forma es marcadamente diferente del tejido óseo. Su composición está formada esencialmente de diferentes tipos de colágeno (pero sin mineralizar

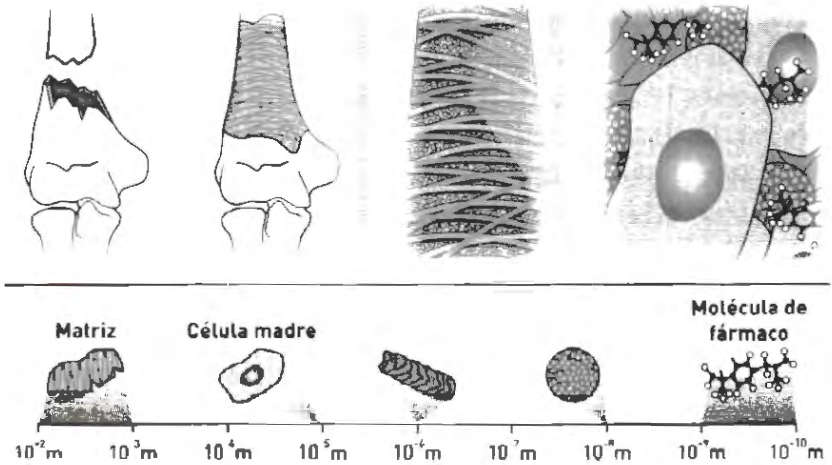
> FABRICAR LA MATRIZ

En la aplicación de la nanomedicina a la regeneración de los tejidos resulta esencial controlar el grosor y la orientación de las fibras que compondrán la base de nanofibras. Una de las técnicas empleadas es el *electrospinning*: la solución base que da lugar a los polímeros se pasa por una aguja donde tendrá lugar la reacción de formación de la fibra, al tiempo que se la somete a un elevado potencial eléctrico. Controlando factores como la concentración de los productos, el potencial aplicado, el diámetro de la punta o la viscosidad de la muestra, se genera una fibra del grosor deseado. Por otra parte, en función del movimiento de la punta, es posible regular el tamaño de los poros que quedarán al entrecruzarse las fibras y conseguir matrices formadas por fibras entrecruzadas u orientadas de determinada manera. Para regenerar hueso es preferible una red entrecruzada en tres dimensiones, mientras que para la reparación de nervios se opta por matrices planas de fibras longitudinales.



— La técnica del *eslectrospinning* permite entrecruzar las fibras hasta hacer una red compacta, apta para regenerar hueso, o bien orientarlas hasta que queden alineadas en una misma dirección. Estas son ideales para reparar nervios.

Fig. 2



Terapia de regeneración de hueso a diferentes escalas de tamaño. La zona dañada se rellena con una matriz generada por un entramado de fibras que contiene las células que regenerarán el tejido y nanocontenedores con fármacos.

como en el hueso) y por polímeros de la familia de los glicosaminoglicanos, como el hialuronato o los condroitín sulfatos. Estos glicosaminoglicanos son cadenas largas de azúcares más o menos complejos que forman una red flexible y con una gran capacidad para captar y retener agua. Esto es lo que les da las características típicas de flexibilidad y resistencia al desgaste del cartílago. Las estructuras que constituyen el cartílago están fabricadas y depositadas por los condrocitos, las células específicas de este tipo de tejido. Como en el caso del hueso, para promover su regeneración se parte del diseño de una matriz tridimensional donde situar las células madre que se transformarán en condrocitos y reconstruirán el cartílago. No obstante, el tipo de matriz que hay que generar en este caso ha de tener unas propiedades diferentes de las diseñadas para el hueso.

El objetivo en este caso ya no es conseguir una matriz razonablemente rígida, sino una que mimetice la flexibilidad de la estructura natural cartilaginosa y que facilite el crecimiento de los condrocitos o bien la diferenciación de células madre a condrocitos. Para ello se están diseñando matrices con diferentes materiales que se ha observado que favorecen el crecimiento de los condrocitos. En general son polímeros de azúcares a los que se han incorporado grupos sulfato, de manera que tienen una estructura parecida a algunos glicosaminoglicanos, consiguiéndose así que las células incorporadas se establezcan con mayor facilidad y regeneren la matriz básica del cartílago más rápidamente.

La aplicación de la nanomedicina a la regeneración del tejido esquelético no se restringe a las lesiones por traumatismos, sino que también puede aplicarse para corregir malformaciones congénitas y alargar algún hueso. La técnica de *elongación ósea*, usada en cirugía ortopédica, consiste en fracturar un hueso de manera controlada y mantener ligeramente separados los dos extremos para inducir el crecimiento de nuevo tejido. Progresivamente se van separando, a ritmo de aproximadamente un milímetro diario, hasta alcanzar la longitud deseada. Este proceso es lento y con riesgo de complicaciones, especialmente infecciones, por lo que resulta especialmente interesante desarrollar maneras de acelerar el crecimiento. Esto se puede conseguir mediante la administración de agentes estimulantes de la regeneración, pero las dificultades para su administración han hecho que el uso de las nanopartículas dirigidas para unirse a las zonas de crecimiento del hueso aparezca como la opción más prometedora.

Otro interesante caso particular de estructura relacionada con la aplicación de la nanomedicina al tejido esquelético es el de los dientes. El tejido que se ha de reparar puede ser la propia estructura dental o, alternativamente, la parte del hueso mandibular donde se insertan las piezas. La periodontitis es una afectación de las encías que va progresando hasta la degradación de la matriz de

colágeno y que finalmente lleva a la pérdida del componente óseo donde se asientan las raíces dentales. Es un proceso relacionado con la placa bacteriana que se genera en los dientes y la inflamación desencadenada en respuesta a estos microorganismos. Esto hace que, aunque los principios de actuación para una terapia de regeneración sean similares a los del hueso o del cartílago, con la generación de una matriz donde insertar las células madre dentales, en el caso de los dientes resulte particularmente importante incorporar nanopartículas con agentes antiinflamatorios y antibacterianos que vayan liberando su contenido de manera constante y prolongada en el tiempo.

REGENERACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO

El sistema esquelético dispone de mecanismos para reparar y regenerar de manera espontánea. El objetivo aquí de la nanomedicina consiste en acelerar y optimizar estos procesos, especialmente en aquellas situaciones en las que los daños son considerables. En cambio, estos mecanismos endógenos de reparación son mucho más limitados en otros sistemas, como es el caso del sistema nervioso. Esto hace que abordar la regeneración de estructuras nerviosas dañadas represente un reto mucho más formidable.

Durante mucho tiempo se consideró que los daños en el sistema nervioso eran irreparables debido a la falta de crecimiento de las neuronas y se daba por hecho que en humanos adultos no tenía lugar la neurogénesis, esto es, la formación de nuevas neuronas. Esta idea se fue demostrando errónea y la identificación de determinadas células madre neuronales con capacidad para generar neuronas en determinados casos terminó de descartarla. Es cierto que la cantidad de estas células con capacidad para transformarse en neuronas es limitada y que su capacidad de proliferación en condiciones normales es reducida, pero su mera existencia ha permitido

disponer de un instrumento que hace pensar en la posibilidad de abordar la reparación del tejido nervioso más allá de los injertos de nervios extraídos del cuerpo del propio paciente, lo que supone una extirpación de nervio en un lugar distinto al de la lesión y cuyos resultados son limitados.

Tal vez el objetivo más simple para la regeneración nerviosa asistida sea la de un único nervio. Por diferentes causas, como patologías o traumatismos, un nervio puede quedar dividido en dos, de manera que la transmisión de la señal nerviosa que circule por su interior se vea interrumpida. Anatómicamente, un nervio está formado por un haz, o más bien un haz de haces, de axones, largas prolongaciones de los cuerpos de las neuronas del cerebro o de la médula espinal que transmiten señales eléctricas envueltos en mielina, una sustancia aislante, y rodeados por las llamadas células de Schwann, que según investigaciones recientes desempeñan un papel activo en la reparación nerviosa espontánea. Cada axón, haz de axones y el haz de haces de axones que es el nervio tienen su propia funda. Los impulsos eléctricos que circulan por los axones de los nervios transmiten o envían señales desde la piel o los músculos hacia el sistema nervioso central (la médula espinal y el cerebro) o desde este hacia aquellos, con la información sensorial o motora.

Tras la rotura, los dos extremos del nervio roto suelen retraerse, de manera que en condiciones normales es prácticamente imposible que los posibles axones en crecimiento encuentren el otro extremo y se conecten de manera correcta. Por otra parte, el proceso inflamatorio que inicialmente tiene lugar en respuesta al daño sufrido también compromete la regeneración del tejido, ya que muchos de los mediadores inflamatorios que se generan tienen actividad inhibidora de la proliferación celular.

Para conseguir el crecimiento en la dirección correcta y sin interferencias de otros tipos celulares, como los del sistema inmunitario, se están desarrollando sistemas de guiado que esencialmente

consisten en un conducto que una los dos extremos seccionados y por el que las nuevas neuronas puedan crecer en la dirección correcta. Esta estructura requiere, además, un cierto grado de porosidad para permitir la llegada de nutrientes y la eliminación de productos de desecho, pero también para poder administrar los factores de crecimiento necesarios para estimular la proliferación de las nuevas neuronas (fig. 3). En realidad, es preferible unir estos factores a la capa interna de la propia estructura, de manera que el crecimiento de los axones irá siendo estimulado a medida que vaya progresando.

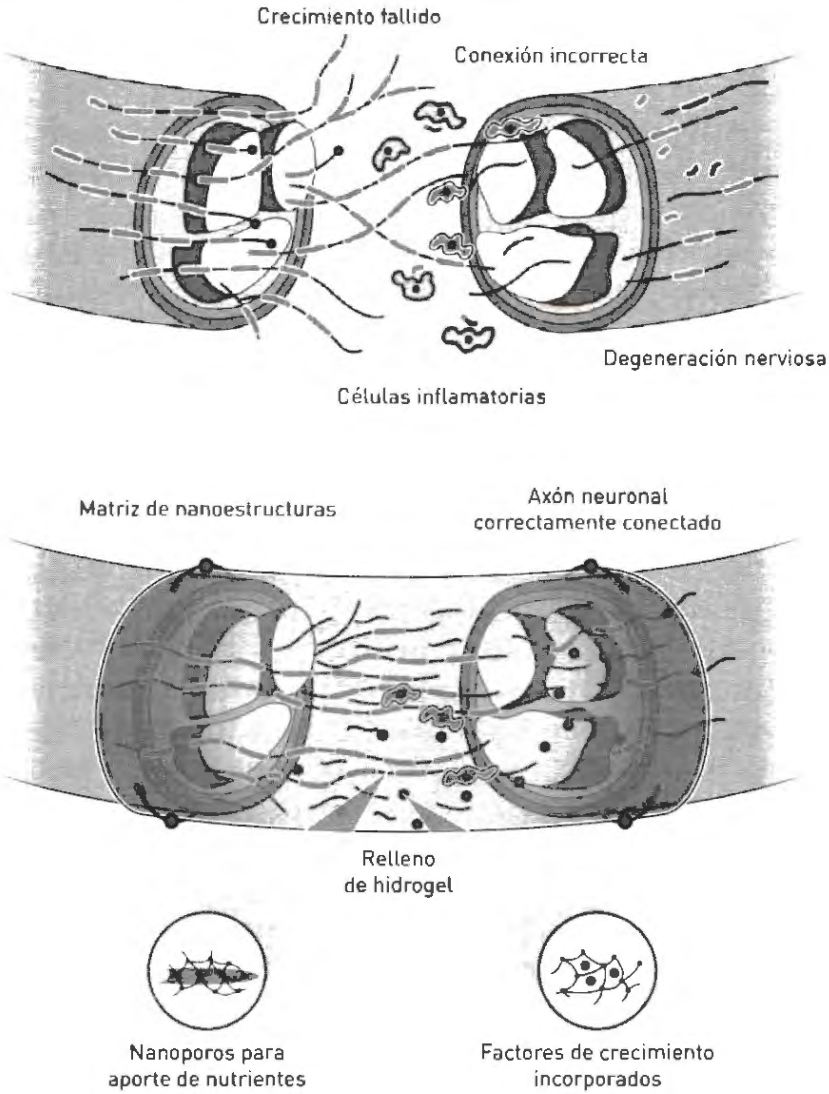
Tal como sucedía en el caso de las matrices para regenerar el tejido óseo, el material con el que se construyen los conductos para la reparación del nervio resulta determinante a fin de conseguir las características deseadas. Hay diversos productos comerciales de polímero natural o sintético. La silicona se utilizó en un principio para construir el tubo, pero creaba irritación y había que extraerla, por lo que ahora se usa colágeno, ácido poliglicólico o compuestos más complejos con ácido láctico, caprolactona y colágeno.

Aunque lo ideal sería restablecer las conexiones entre todos los axones de la fibra seccionada, en general basta con reparar un cierto porcentaje de ellas para conseguir que la señal vuelva a circular y se restablezca la función perdida.

Más allá de un único nervio

Establecer puentes que sirvan de guía entre los extremos de un nervio dañado permitirá restablecer la funcionalidad en casos «relativamente» sencillos, como el daño en el nervio ciático o en el nervio ocular. Pero el sistema nervioso puede sufrir daños en el sistema nervioso central, donde la orientación de las neuronas presenta una complejidad mucho mayor y el grado de conexiones

Fig. 3



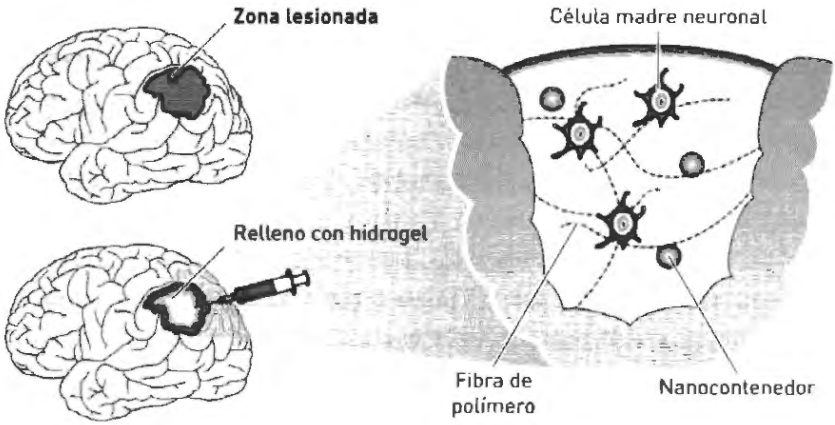
Para reparar un nervio seccionado hay que rodearlo con una estructura hecha de fibras convenientemente orientadas que actúe como sistema de guiado de las nuevas neuronas y aporte los factores de crecimiento necesarios.

entre ellas ya no se asimila a un cable eléctrico, sino a una compleja red en la que cada nodo y cada nivel de conexión son diferentes. Es evidente que en estos casos ya no es planteable el uso de conductos tubulares que promuevan y guíen los axones. Ahí lo que cabría usar son andamios para la reconstrucción neuronal, tal y como se usan para la reconstrucción ósea, en los que se siembren células madre.

Uno de los materiales adecuados para construir esas matrices son los hidrogeles, o geles hidrófilos (la gelatina comestible, por ejemplo, es un hidrogel), de uso en la ingeniería de tejidos porque sirven para imitar los entornos en los que se suelen encontrar las células. Se han realizado estudios en animales de experimentación que tenían dañada una parte de la corteza cerebral para verificar la biocompatibilidad de los diferentes tipos de hidrogeles y su capacidad para difundirse rellenando el espacio lesionado, y determinar así el tiempo de biodegradación. También resulta muy importante que el hidrogel no actúe induciendo la activación de la respuesta inmunitaria. Hay que recordar que en el cerebro existe un notable componente de células con funciones defensivas, como la microglía, que se considera el sistema inmunitario del sistema nervioso central. Su activación conllevaría la rápida destrucción del hidrogel y de los componentes que se incorporasen.

Idealmente, los hidrogeles se podrían cargar con células madre neuronales propias, de manera que se excluiría la posibilidad de rechazo. Igualmente, se les añadiría también una determinada cantidad de factores de crecimiento, así como agentes inhibidores de la respuesta inflamatoria (fig. 4). Esta estructura puede promover la generación de nuevas redes neuronales que con toda seguridad no serán idénticas a las iniciales pero que, gracias a la gran plasticidad de muchas zonas del cerebro, permitirían recuperar parte de las funciones perdidas. Aunque por el momento tan solo se han conseguido resultados esperanzadores en experimentos de laboratorio, es de esperar que en un futuro próximo esta aproximación

Fig. 4



En el caso de daños en el cerebro se requiere el diseño de hidrogeles biocompatibles donde insertar células madre neuronales y nanocontenedores con los factores de crecimiento y fármacos que promuevan el crecimiento neuronal.

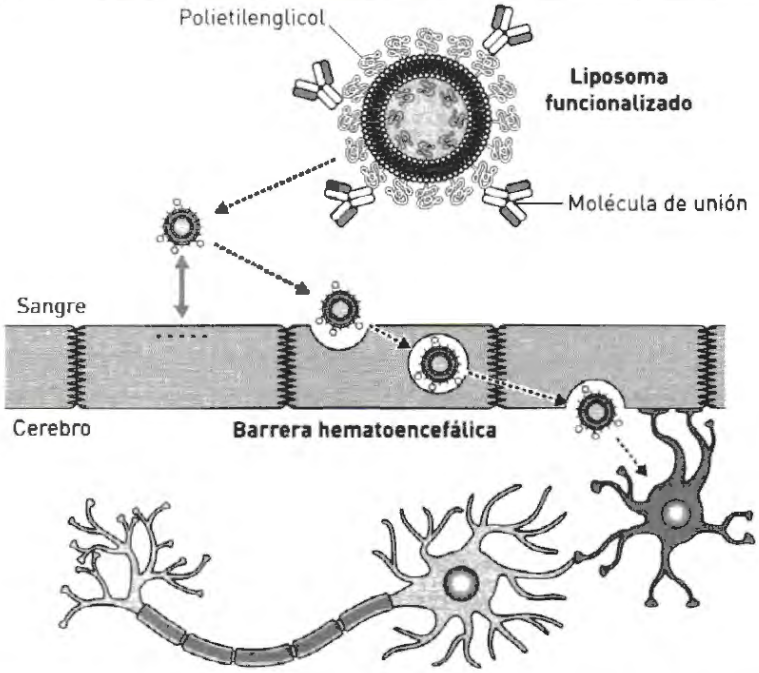
empiece a dar resultados palpables para empezar a ser trasladados a la práctica clínica.

Nanocontenedores contra la barrera hematoencefálica

Las lesiones en el cerebro o los daños causados por procesos neurodegenerativos presentan un problema adicional al que ha de hacer frente cualquier tratamiento enfocado a enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central. El motivo es que existe una dificultad para que cualquier fármaco alcance la zona dañada debido a la presencia de una estructura llamada *barrera hematoencefálica*. Esencialmente es un sistema que impermeabiliza los vasos sanguíneos del cerebro de manera que muy pocas moléculas puedan cruzar el límite entre la sangre y la zona encefálica. A diferencia del

resto del cuerpo, los capilares sanguíneos que envuelven al cerebro no presentan fenestraciones ni poros por donde las diferentes moléculas pueden abandonar el torrente circulatorio y alcanzar las células de los tejidos circundantes. El cerebro es un órgano demasiado delicado y, en condiciones normales, tan solo un pequeño grupo de moléculas puede llegar a su interior gracias a unas proteínas situadas en las paredes de los vasos sanguíneos cerebrales y que actúan como sistemas de transporte específicos. Esto hace que muchos tratamientos no sean efectivos simplemente porque no son reconocidos por los transportadores y no consiguen llegar hasta la zona dañada del cerebro.

Fig. 5



Nanocontenedores como los liposomas convenientemente funcionalizados permiten transportar fármacos a través de la barrera hematoencefálica y alcanzar la red neuronal del interior del cerebro.

Una estrategia efectiva para cruzar esa barrera consiste en incorporar los fármacos al interior de liposomas u otros tipos de nanocontenedores, a los que se les han añadido moléculas que actúen uniéndose a la pared de los vasos sanguíneos de la zona cerebral. De esta manera pueden cruzar la barrera hematoencefálica formada por estas células y transportar el fármaco hasta el interior del cerebro (fig. 5). Esta es una aproximación que presenta un importante potencial cara al diseño de terapias para intentar controlar enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o el Alzheimer. En estos casos, una opción para atenuar la pérdida de neuronas consiste en administrar factores de crecimiento y otros agentes que estimulen la regeneración neuronal.

RECUPERAR LA PIEL

Si el sistema nervioso, y en particular el cerebro, plantea los retos más formidables a los que se pueden enfrentar las terapias de regeneración, el caso de la piel parece justo lo contrario. No hay problemas para acceder a ella, ya que es el tejido de la superficie externa del cuerpo. Su estructura, organizada en diferentes capas secuenciales —la epidermis exterior, la dermis intermedia y la hipodermis profunda—, también es mucho más sencilla que la que se observa en las intrincadas conexiones del sistema nervioso. Finalmente, su capacidad de regeneración es más que notable, como podemos verificar cada vez que sufrimos un corte o una herida superficial, que sabemos que desaparecerá en pocos días y sin dejar huella.

Pero a pesar de ello, aún no se dispone de ningún tejido generado por bioingeniería que pueda suplir todas las funciones de la piel. La piel actúa como una barrera mecánica impenetrable para los microorganismos particularmente resistente, flexible y adaptable. También presenta una importante actividad metabólica: genera, por ejemplo, la vitamina D que necesitamos. Además, des-

empeña un papel esencial en la regulación de la temperatura corporal controlando el grado de sudoración o de vasoconstricción que permite exportar o retener calor. Y, finalmente, en la piel disponemos de una extraordinaria cantidad de terminaciones nerviosas con las que podemos percibir un sin número de señales de presión, temperatura, dolor o placer generadas a partir de estímulos externos.

La capacidad de regeneración de la piel se debe a la presencia de una capa basal de células que mantienen una gran capacidad de crecimiento. Esto incluye a las células características de la piel, los denominados *queratinocitos*, pero también a los fibroblastos, encargados de fabricar la matriz de colágeno que unirá, de manera fuerte pero flexible, todas las estructuras que componen la piel. Tan solo cuando los daños afectan a la capa basal la piel pierde la capacidad de regenerarse completamente. Esto sucede en caso de heridas particularmente importantes o, sobre todo, cuando hay grandes quemaduras. Dos situaciones en las que la cirugía plástica ha hecho grandes progresos y para las que ha encontrado en la nanomedicina una nueva fuente de herramientas.

Hay situaciones en las que se mantiene la estructura de la capa más basal de la piel y, por lo tanto, no se ha perdido la capacidad de regeneración, y a pesar de ello sigue siendo necesaria la terapia regenerativa. Esto sucede cuando la superficie dañada es muy extensa, haciendo que el riesgo de infecciones sea extremadamente elevado y se requiera una reepitelización lo más acelerada posible. Para conseguirlo se puede usar una amplia batería de nanopartículas diseñadas para transportar factores de crecimiento que estimulen las diferentes células necesarias para la reconstrucción de las capas de la piel. Eso incluye agentes como el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento de fibroblastos, el factor de crecimiento endotelial vascular o el factor de crecimiento similar a la insulina, entre otros. Aunque se pueden administrar inyectándolos, sus efectos resultan mucho más marcados si se unen a nanotransportadores.

Otros agentes que resultan útiles son las nanopartículas de plata que presentan propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, características que contribuyen a acelerar el proceso de regeneración de la piel. En este ámbito ha habido una interesante observación relacionada con el uso de nanopartículas cargadas con derivados de la morfina. Su aplicación aceleró el crecimiento de los queratinocitos al acelerar la capacidad de movimiento de estas células y, por lo tanto, su capacidad para cerrar heridas o cubrir amplias zonas de lesión. Puesto que en este tipo de lesiones extensas de la piel la administración de morfina también suele ser necesaria para el control del dolor, el doble efecto obtenido con la aplicación de estas nanopartículas resulta particularmente interesante. Más aún cuando se trata de una formulación que facilita la estabilidad del fármaco y su liberación controlada durante más tiempo.

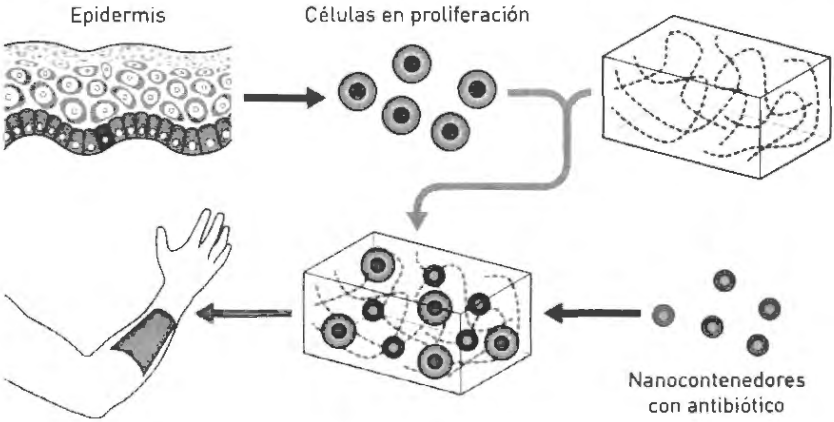
> La combinación de células madre y fármacos es el futuro de la medicina.
>
> CADE HILDRETH

La aplicación de antibióticos mediante nanopartículas que vayan liberándolos progresivamente y tan solo en la zona de riesgo maximiza su efectividad, a la vez que reduce considerablemente el riesgo de aparición de resistencias (fig. 6).

Por otra parte, el proceso de regeneración resulta mucho más eficiente y controlado si la administración de estos agentes se realiza con hidrogeles situados en la superficie de la piel dañada. Combinando diferentes preparaciones de nanotubos con polímeros de metracrilato modificados, se pueden conseguir hidrogeles con unas propiedades físicas que les permiten adaptarse eficientemente a la zona dañada y que se pueden impregnar de fármacos que serán liberados de manera progresiva. De este modo se obtiene un crecimiento mantenido en el tiempo de las células encargadas de reconstruir la piel.

En todo caso, la dificultad más importante tiene lugar cuando se ha perdido la capacidad endógena de regeneración y hay que

Fig. 6



Para la regeneración de la piel, las células en proliferación obtenidas de la epidermis se insertan en una matriz de nanofibras formando un nanogel, al que se le añaden nanocontenedores con antibiótico para prevenir las infecciones.

recurrir a las células madre para fomentar el desarrollo de nuevos queratinocitos. Para conseguir esto se han ensayado células madre de diferentes orígenes, especialmente obtenidas de la médula ósea y del tejido adiposo. Ya dijimos que estas últimas tienen la ventaja de ser más fácilmente asequibles, por lo que han sido ensayadas en más ocasiones. Idealmente se requeriría una matriz en la que las células madre iniciarán su transformación hacia queratinocitos por medio de la inclusión en el entramado de nanofibras de los agentes necesarios para encarrilarlas hacia este tipo celular concreto. Además de los factores de crecimiento, también se ha visto que el hecho de añadir proteínas presentes en la matriz extracelular normal de la piel, como el colágeno, mejora el rendimiento de diferenciación probablemente al estar las células más adaptadas a ese tipo de lugares de unión a nivel molecular.

Otro factor importante que tener en consideración en el caso de las nanoestructuras diseñadas para aplicar a la piel es la nece-

sidad de mantener unas propiedades físicas que mimeticen en lo posible su resistencia y flexibilidad. A diferencia de otros tejidos, la piel está sometida a un número considerable de movimientos, extensiones y presiones. Naturalmente, en las primeras etapas de regeneración se requiere la inmovilización, pero antes o después tendrán lugar movimientos que han de ser absorbidos por la matriz del hidrogel. La elección del tipo de polímeros y la manera de generarlos han de satisfacer una correcta estabilización de las células madre en estado de transformación y la flexibilidad necesaria para garantizar la función de la piel.

En definitiva, la combinación de la nanotecnología con las técnicas de terapia celular está abriendo la puerta a posibilidades de reparación impensables hace solo un par de décadas. Aunque en muchos casos se trata de estudios experimentales que aún no están en fase clínica, en los próximos años veremos cómo muchos de ellos pasan a formar parte del arsenal de herramientas disponibles para la regeneración de órganos y tejidos.

05

EL FUTURO DE LA MEDICINA: MENOS SERÁ MÁS

Durante mucho tiempo los avances en medicina se asociaban a sistemas, equipos e incluso centros de salud cada vez más grandes. Sin embargo, en el otro extremo de la escala dimensional la nanomedicina ha marcado un nuevo camino que seguir y muchos de los avances que veremos en el futuro tendrán lugar a escala molecular.

A lo largo de estas páginas hemos visto que, sea para el diagnóstico, la terapia o la regeneración, la nanomedicina ya está empezando a ofrecer nuevas estrategias que modificarán de manera notable el cuidado de nuestra salud y la forma de proceder del personal sanitario. El motivo está relacionado con el hecho de que, aunque en la actualidad muchas de las herramientas de la nanomedicina ejercen su función de manera controlada por los médicos, nada impide que en un futuro posiblemente no muy lejano, tal y como soñaba Richard Feynman, se diseñen para actuar de manera autónoma. Es fácil deducir que cuando esto ocurra, el papel de los profesionales de la sanidad y de las infraestructuras hospitalarias será muy diferente del que hoy estamos habituados.

Y es que las posibilidades de todos estos avances, en combinación con otras disciplinas, como la biónica, la telemática, la genómica, la bioinformática o la robótica, permiten ir mucho más lejos: la función de los nanocontenedores se ampliará más allá del mero transporte de fármacos de modo que incorporarán detectores para establecer el momento en el que han de actuar, mecanismos

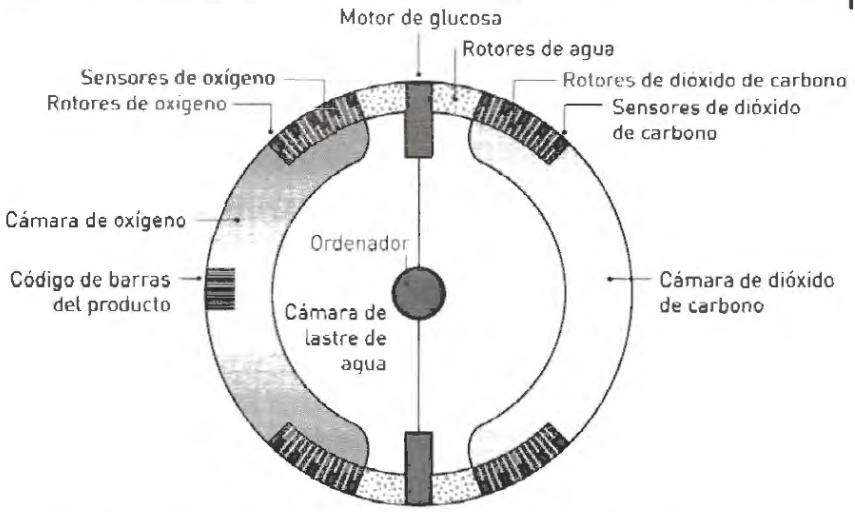
para desplazarse hasta el lugar adecuado y sistemas para transmitir la información. Dicho en otras palabras, estas nanomáquinas irán ganando complejidad e incorporando nuevas capacidades, igual que los sensores nanométricos ampliarán su rango de detección hasta límites insospechados. Los desarrollos futuros, además, nos proporcionarán un potencial increíble no solo para mejorar, sino también para potenciar el sistema inmune, reparar los daños celulares causados por el envejecimiento o, como veremos a continuación, para mejorar el sistema de transporte de oxígeno del cuerpo.

MEJORAR EL TRANSPORTE DE OXÍGENO

Los glóbulos rojos de la sangre, o eritrocitos, son esencialmente contenedores que transportan oxígeno de los pulmones a las células y dióxido de carbono en sentido contrario. Algunas patologías, como anemias graves, enfisemas o fibrosis pulmonar, pueden reducir la capacidad del organismo para transportar oxígeno, comprometiendo seriamente la vida de los afectados. Para paliar estas situaciones ¿por qué no diseñar sistemas de transporte que emulen a los eritrocitos, intentando incluso mejorar su rendimiento? Este sería el objetivo del respirocito, una teórica célula sanguínea artificial diseñada para transportar oxígeno o dióxido de carbono con mayor eficacia que los glóbulos rojos naturales. Su diseño fue propuesto en 1998 por el ingeniero Robert A. Freitas Jr., del Instituto para la Fabricación Molecular, en Palo Alto, California.

El respirocito (fig. 1) sería una esfera de una micra de diámetro formada por dieciocho mil millones de átomos, más nueve mil millones de carga máxima, dividida en compartimentos y dotada de diversos dispositivos. Al ser más pequeños que los eritrocitos, que miden unas ocho micras por dos y medio, los respirocitos podrían moverse incluso mejor por los capilares sanguíneos, donde los

Fig. 1



Sección del respirocito diseñado por Robert A. Freitas Jr. Se trata de un nanorrobot que integra desde un motor de glucosa y sensores de oxígeno y dióxido de carbono hasta un ordenador central.

eritrocitos apenas si caben. Estarían construidos con un material diamantino (una estructura de carbono que emula algunas de las propiedades de los diamantes, como su resistencia) para hacerlos resistentes y duraderos, aunque en caso necesario podrían extraerse mediante un proceso de centrifugación de la sangre. Un código de barras, en forma de círculos concéntricos alrededor de los polos, permitiría que se supiese mediante un examen de la sangre que el sujeto porta respirocitos u otro tipo de posible nanodispositivo.

En la pared del respirocito, en contacto con el exterior, habría unos rotores, discos giratorios que tendrían marcadas en su borde unas muescas o «bolsillos» que recogerían las moléculas concretas que cada uno se encargase de introducir en el interior del nanodispositivo. Al girar los rotores, las bocas captadoras del borde del disco dejarían de encarar el exterior (el flujo sanguíneo) y mirarían

hacia su interior, hacia una cavidad para el almacenamiento de las moléculas correspondientes (de oxígeno o dióxido de carbono), y allí estas se desprenderían empujadas por varillas que se proyectarían desde la leva que le impartiría al disco el movimiento rotativo. Girando en sentido contrario, el rotor extraería moléculas de la cavidad y las entregaría al exterior, a una célula, por ejemplo.

> La potenciación nanomédica del cuerpo humano puede extender la vida hasta un grado que aún no podemos predecir con exactitud.
>
> Robert A. Freitas Jr.

Los rotores estarían incluidos en doce estaciones de bombeo, dispuestas como una banda a lo largo del ecuador del respirocito. En cada estación habría un gran número de rotores, unos para introducir glucosa en el dispositivo y otros para el agua, el dióxido de carbono y el oxígeno. La glucosa serviría como fuente de energía de los motores de las estaciones de bombeo; la cantidad de agua estaría calculada para que el respirocito flotase en la sangre teniendo en cuenta el oxígeno y dióxido de carbono que transportase. Cada una de esas moléculas tendría sus propios depósitos, a unas mil atmósferas de presión. El respirocito podría entregar a los tejidos del organismo, según los cálculos de Freitas, 236 veces más oxígeno por unidad de masa que los eritrocitos.

Las operaciones estarían dirigidas por un ordenador diminuto instalado a bordo del glóbulo rojo artificial. Para realizar su función bastaría con una capacidad de cómputo de 500 kilobytes. Este ordenador contaría con información que le proporcionarían los sensores incorporados al respirocito, también nanométricos y construidos directamente mediante el ensamblaje de átomos.

Los respirocitos se podrían vender como polvo en bolsas con dos tomas. Al verter una solución con glucosa por una de ellas, los sensores de los respirocitos captarían la presencia de esa sustancia y la cargarían en sus depósitos de combustible. Por la otra toma recibirían oxígeno, que cargarían también en su interior. Después

> ROBERT A. FREITAS JR., EL PADRE DE LOS NANOBOTS

— Robert A. Freitas Jr., uno de los investigadores que está desarrollando nanocontenedores médicos.

El sueño de científicos como Richard Feynman de conseguir unas «pequeñas máquinas» o nanobots que puedan ser incorporados al organismo humano y velen por su salud es el gran objetivo que persigue el investigador estadounidense en nanotecnología Robert A. Freitas Jr. (n. 1952). Formado en física y psicología, a lo largo de su carrera ha publicado numerosos estudios en diferentes campos de la ciencia y de la ingeniería, entre ellos un análisis de viabilidad de fábricas espaciales autorreplicantes que publicó en 1980 en colaboración con la NASA. Pero han sido sus investigaciones en el ámbito de la nanomedicina las que más fama le han dado. En 1998, fue el primero en hacer un estudio detallado del diseño técnico de un hipotético nanobot médico, el respirocito, una especie de célula artificial para el transporte de oxígeno. Un año más tarde vio la luz el primer volumen de su libro *Nanomedicina*, al que siguió en 2003 el segundo. Los clotocitos (células artificiales reparadoras) y los microbívoros (células artificiales que refuercen el sistema inmunitario) son algunos de los proyectos que ha ideado y en los que actualmente está trabajando como miembro del Instituto para la Fabricación Molecular de Palo Alto (California). Entre otros reconocimientos, en 2009 ganó el premio Feynman de nanotecnología por sus aportaciones en nanomedicina, máquinas autorreplicantes y mecanosíntesis.

se los activaría mediante ultrasonidos (contarían con los sensores oportunos para ello) para que equilibrasen su contenido de lastre de agua hasta que quedasen en suspensión en el fluido. Una vez preparado, se inyectaría en la sangre del paciente.

Pero aparte de las mejoras que supondría su implantación en la salud de los pacientes, los respirocitos podrían reemplazar las funciones de los eritrocitos, de manera que muchas de las transfusiones de sangre se podrían sustituir por la administración de una cantidad adecuada de esos dispositivos. Los respirocitos se podrían diseñar de manera que se comportasen como equivalentes nanotecnológicos de la sangre de los donantes universales, por lo que desaparecerían los problemas asociados a los diferentes grupos sanguíneos.

No obstante, aún habrá que superar muchos obstáculos antes de que esta tecnología esté disponible, como el control de la respuesta inmunitaria del organismo frente a estos nanobots o el problema de su eliminación controlada.

LA CREACIÓN DE PLAQUETAS ARTIFICIALES

Otro de los componentes de la sangre que la nanomedicina espera recrear sintéticamente en un futuro próximo son las plaquetas, pequeños fragmentos de células sanguíneas cuya función es formar coágulos de sangre que ayuden a sanar las heridas y a detener el sangrado.

Diseñadas también por Freitas, estas células reparadoras se denominan clotocitos y serían una esfera de dos micras de diámetro con una maraña de fibras, muy plegadas, en su interior. Conforme a lo que registrasen los detectores del clotocito, su ordenador desplegaría la maraña en las inmediaciones de la pérdida de sangre. Parte de las fibras de la maraña estarían recubiertas de una película delgada que se disolvería con el agua del plasma sanguíneo, lo

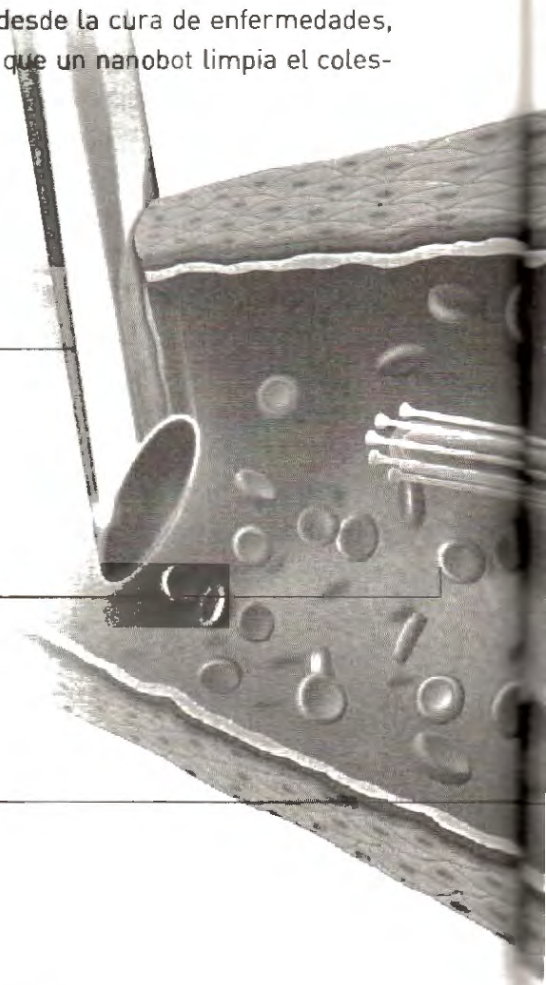
que dejaría al descubierto unas secciones que tendrían la capacidad de adherirse a los eritrocitos, es decir, que poseerían estructuras moleculares capaces de unirse a estructuras complementarias presentes en la superficie de los eritrocitos y solo presentes en estos. El tamaño del clotocito sería más que suficiente para albergar una maraña que cubriese una herida de 0,1 milímetros cuadrados: si la fibra fuese diamantina, podría soportar la presión sanguínea con un grosor de menos de un nanómetro y unos intersticios en la red de la maraña de un nanómetro de ancho; su volumen sería de una décima de micra cúbica, un tres por ciento del volumen del dispositivo. Con fibras orgánicas el grosor sería de dos nanómetros y medio, y el volumen ocupado en el clotocito del 30 %. Como la concentración de oxígeno y dióxido de carbono es distinta en la atmósfera y en el aire, el clotocito más cercano a la salida de sangre desde un vaso sanguíneo roto hacia la atmósfera percibiría el cambio con sus sensores y retransmitiría esa información a los demás clotocitos mediante señales acústicas. Con este sistema, una hemorragia se podría frenar en cuestión de segundos, en lugar de los minutos que se precisan para que tenga lugar la formación del trombo que inicia el proceso de reparación natural. Pasar de minutos a segundos puede no parecer gran cosa, pero dependiendo de las dimensiones del daño en el vaso sanguíneo, la diferencia en volumen de sangre perdida durante este tiempo puede llegar a ser muy importante.

MEJORAR EL SISTEMA INMUNE

La nanomedicina está trabajando también en el desarrollo de una nueva generación de sistemas para combatir las infecciones. La idea puede parecer similar a la de los respirocitos, pero en este caso los nanobots se encargarían de luchar contra los microorganismos infecciosos. Su misión imitaría el comportamiento de los fagocitos,

> LOS NANOBOTS DEL FUTURO

El desarrollo de la nanotecnología está permitiendo el diseño de robots de tamaño molecular, los nanobots, capaces de operar en el interior del organismo. Sus posibilidades abarcan desde la cura de enfermedades, como se aprecia en esta imagen en la que un nanobot limpia el colesterol contenido en un vaso sanguíneo, hasta la reparación de órganos, pues podrían llegar a sustituir a células tan especializadas del cuerpo como las plaquetas o los eritrocitos.



Aguja hipodérmica de un grosor inferior a 0,5 mm

A través de ella pueden inyectarse los nanorrobots al torrente sanguíneo.

Eritrocitos o glóbulos rojos

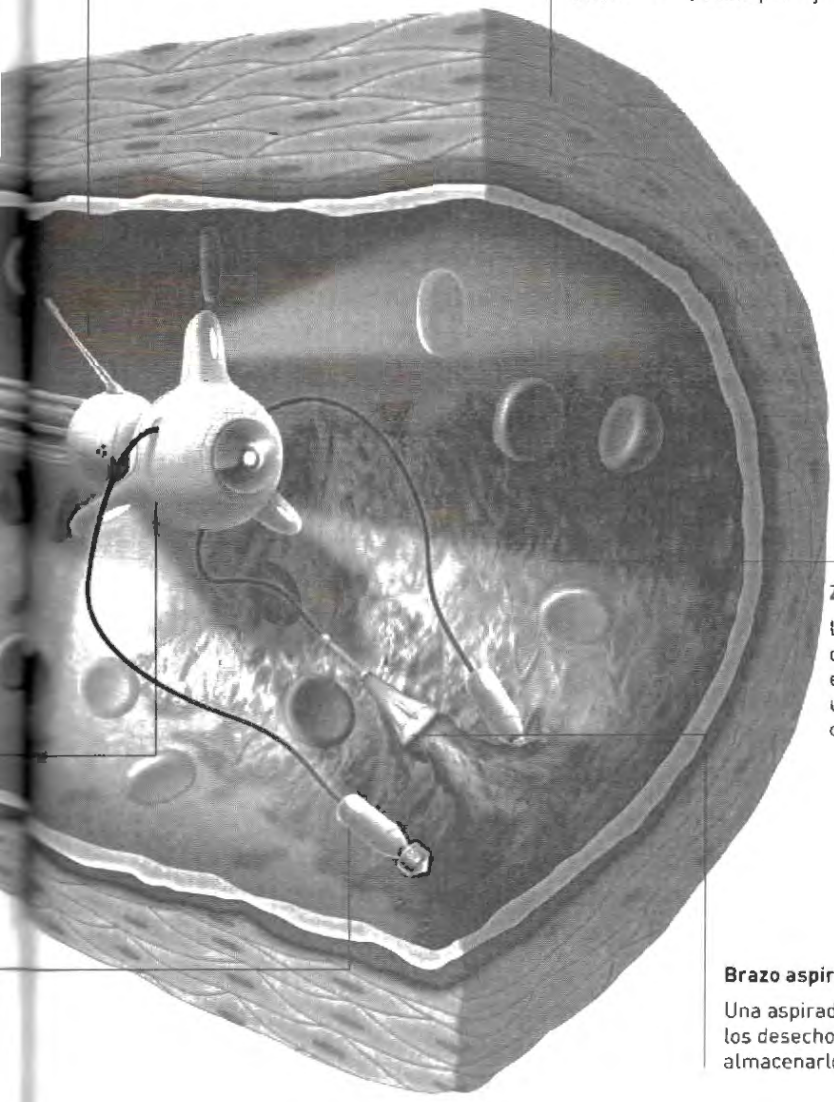
Estas células, las más abundantes en la sangre, transportan el oxígeno a los distintos tejidos del cuerpo

Nanorrobot

El nanorrobot podría permanecer en el interior del sistema sanguíneo llevando a cabo su trabajo o ser programado para biodegradarse de forma segura para el organismo.

Brazo limpiador

Un minúsculo brazo perforador podría rascar y limpiar la placa enferma del vaso.



Receptor

Una antena de comunicación podría enviar y recibir instrucciones de fuera del cuerpo humano.

Pared del vaso sanguíneo

El vaso consta de tres partes: una capa exterior elástica formada por fibras de colágeno, una intermedia con células de músculo liso y otra interior compuesta por tejido endotelio.

Zona enferma

La sección enferma del vaso sanguíneo está recubierta por un tipo de placas que contienen colesterol.

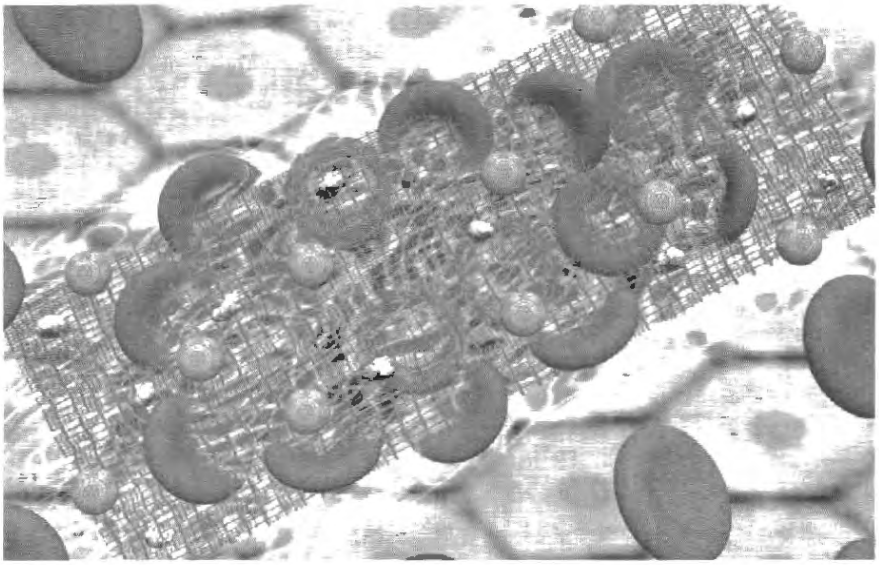
Brazo aspirador

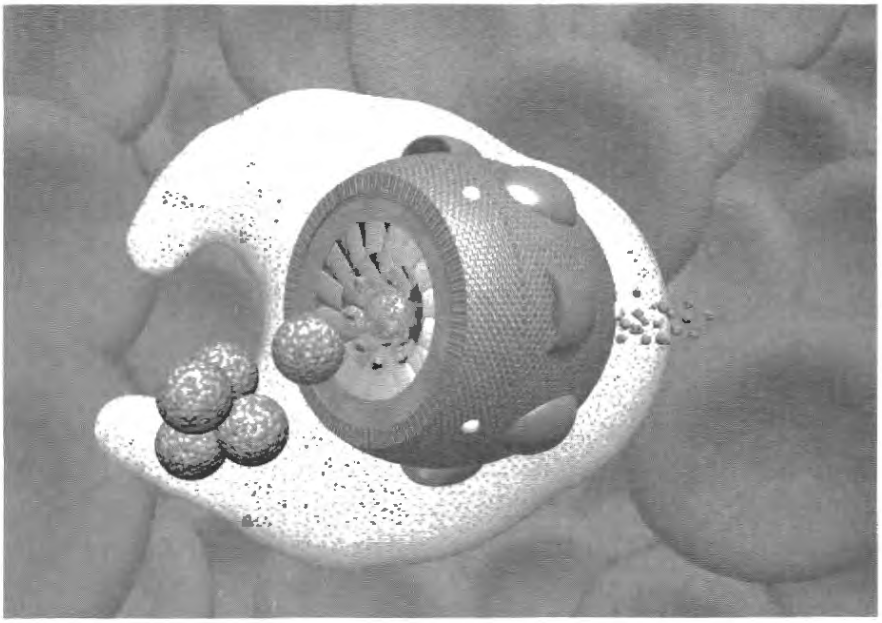
Una aspiradora podría aspirar los desechos de la placa y almacenarlos en el nanobot.

las células del sistema inmunitario del organismo que devoran bacterias invasoras, células propias muertas y otros residuos o parásitos. Estos sistemas, denominados microbívoros —un tercer proyecto de Freitas, publicado en 2005—, requieren mecanismos para detectar y capturar los microorganismos; se basarían en los mismos mecanismos de reconocimiento que tienen las células de nuestro sistema inmunitario. Los microbívoros serían esferas aplastadas, con un eje mayor de 3,4 micras y uno menor de 2 micras, con lo que podrían pasar por cualquier capilar; estarían formados por 610.000 millones de átomos, con hasta 150.000 millones de moléculas de gas o agua como lastre para controlar la flotabilidad.

En la superficie contarían con medios para detectar específicamente el tipo de bacterias que les toque devorar (aunque no solo podrían ocuparse de las bacterias), es decir, con estructuras que se unan a estructuras características de la superficie bacteriana. Una vez producida esa unión, del microbívoro saldrían unos agarradores telescópicos robóticos que introducirían la bacteria dentro del dispositivo, en concreto dentro de una cámara de fraccionamiento, donde serían troceadas mecánicamente. Los pedazos pasarían desde allí a una cámara de digestión, donde una secuencia predeterminada de enzimas similares a las que usamos para la digestión de los alimentos descompondrían los fragmentos en sus componentes más básicos —aminoácidos, nucleótidos, azúcares o lípidos—, que serían expelidos inocuamente al exterior. El diseño de un microbívoro ha de incluir cámaras para almacenar las enzimas, rotores para introducirlas en la cámara de digestión, otros rotores para eliminar los productos resultantes, un sistema de generación de energía basado en reacciones químicas entre glucosa y oxígeno que estarían almacenados en otros compartimentos y un ordenador para controlar la actividad de todos estos componentes.

En el momento en el que los microbívoros sean una realidad, dispondremos de un sistema que permitirá eliminar las infecciones





— En un futuro, la nanomedicina dispondrá de células artificiales como los clotocitos (arriba), que desempeñan la misma función que las plaquetas, o los microbívoros (abajo), que actuarán como un sistema inmunitario suplementario.

en pocas horas en lugar de los días que precisa nuestro sistema inmunitario. Se podría pensar que no ofrece muchas ventajas respecto a una dosis de antibióticos, también efectivos para controlar la infección e igualmente sencillos de administrar. No obstante, los antibióticos ejercen su acción simplemente matando las bacterias, un efecto que puede ser totalmente insuficiente para evitar las consecuencias de la infección, ya que las bacterias muertas siguen activando una respuesta inmunitaria que, con frecuencia, resulta igual de peligrosa que la propia infección. Los microbívoros no solo matarían al agente infeccioso, sino que lo degradarían hasta sus componentes básicos, desactivando de este modo la respuesta inflamatoria que causarían los restos de bacterias muertas. Por otra parte, no hay que olvidar que cada molécula de antibiótico ejerce su acción sobre una única familia de bacterias, mientras que un microbívoro actúa como una célula con capacidad de destruir un número considerablemente elevado de bacterias, número que solo estará limitado por la capacidad de almacenaje de las enzimas que use para destruirlas y descomponerlas en sus elementos más esenciales.

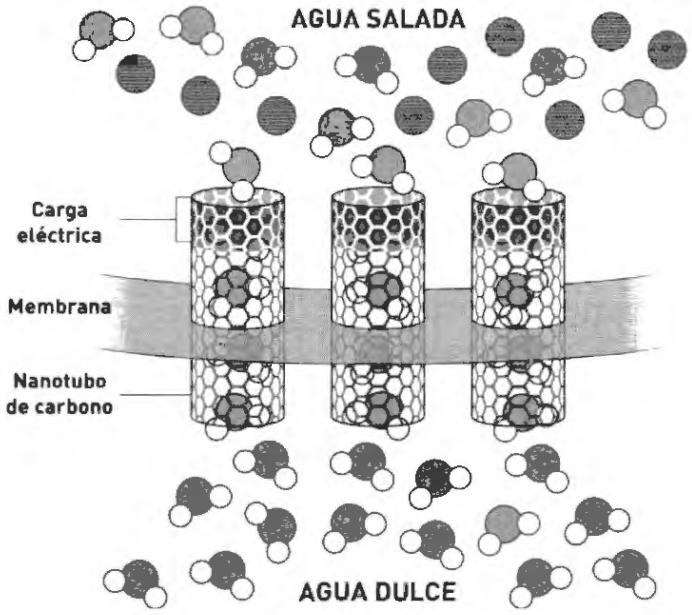
UNA ALTERNATIVA AL TRASPLANTE

Pero el futuro de la nanomedicina no se limita únicamente a la implantación de nanobots viajando en sistema circulatorio, sino que entre sus ambiciosos objetivos se contempla también la actuación sobre órganos sólidos. Cuando un órgano falla de manera irreparable, la única posibilidad que existe para reemplazarlo es el trasplante. No obstante, la disponibilidad de órganos no satisface la demanda y muchos pacientes fallecen mientras esperan la aparición de un donante compatible. En algunos casos, el período de espera puede sobrellevarse gracias a aparatos que suplen la función del órgano dañado. Tal vez los más conocidos sean los aparatos de diá-

lisis, a los que se conectan pacientes con fallo renal, de manera que la máquina suplirá la función de los riñones, filtrando la sangre y eliminando impurezas y toxinas para restituirla al cuerpo una vez depurada. El problema es que el paciente está obligado a conectarse al aparato cada pocos días, lo que condiciona su día a día de manera muy notable.

La nanotecnología permitirá optimizar de manera mucho más eficiente el sistema de membranas de filtrado que mimetizan el funcionamiento de los riñones. Con este objetivo ya se están desarrollando sistemas de *filtrado nefronal* (fig. 2), que pueden trabajar de continuo y que son el primer paso hacia un sistema de implantes a medio ca-

Fig. 2



El sistema de filtrado de los nanotubos de carbono se basa en una membrana que solo permita el paso de moléculas de agua. Las moléculas mayores no pueden cruzar y tampoco, por la repulsión eléctrica, los iones cargados de la sal.

mino entre el trasplante y la diálisis; se trataría de un riñón artificial que se implanta al paciente para que no tenga que estar acudiendo a la unidad de diálisis cada dos días mientras espera un trasplante. Esta tendencia a la miniaturización y optimización de los sistemas de diálisis empezó inmediatamente después del desarrollo de la primera máquina funcional de este tipo, hace ya décadas. No obstante, el salto en el incremento de su rendimiento, necesario para obtener una miniaturización tal que permita implantarlo en el interior del cuerpo, requiere el desarrollo de filtros basados en la nanotecnología, con una capacidad de purificación muy superior a la de los filtros convencionales.

> La medicina de hoy parecerá que estaba en la Edad Media comparada con lo que va a ser en el futuro.
>
> Eric Schmidt

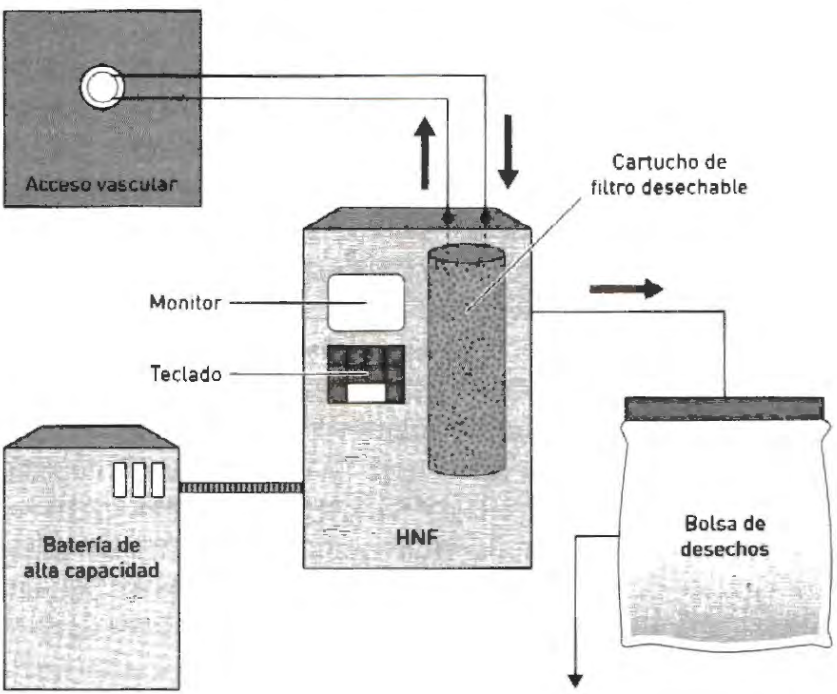
Y de nuevo, esto es tan solo otro primer paso, ya que aunque inicialmente se desarrolle como sistema de sustitución temporal hasta el trasplante de riñón, con el tiempo estos dispositivos llegarán a sustituir al órgano donado. De este modo, el paciente podrá vivir con un riñón artificial en el interior del cual las nanomembranas de filtrado suplirán definitivamente la función de las nefronas en una combinación de nanomedicina y biónica que, con certeza, no será una excepción.

Ya se están desarrollando estructuras basadas en los nanotubos de carbono y las membranas de grafeno para filtrados sencillos, por ejemplo, sistemas para potabilizar agua o para desalarla que aprovechan las propiedades de estas estructuras, que se pueden fabricar de manera que permitan el paso únicamente a las moléculas de agua y resulten impermeables a moléculas de mayor tamaño. En realidad, no se trata solo del tamaño de los nanotubos, sino que también se puede sacar partido de sus propiedades como conductores, de manera que los átomos con carga eléctrica, como los iones de las sales, se verán repelidos o bien quedarán atrapados por la superficie del tubo, mientras que tan solo las moléculas de agua conseguirán cruzar a través suyo. Aprovechando estas estructuras,

una matriz de polímero atravesada por un número suficiente de nanotubos puede constituir un buen sistema de filtrado de agua.

Para mimetizar el funcionamiento de los riñones en el filtrado de la sangre habrá que refinar mucho el proceso, pero los principios serán similares. En este caso se partirá de un primer filtrado en el que primero se separarán del plasma de la sangre las grandes moléculas, como las proteínas o similares, seguido por otro paso, en una segunda membrana, que separará las sales y las moléculas de pequeño tamaño (fig. 3). Mientras que la primera membrana solo

Fig. 3



Para emular el riñón, el sistema de filtrado requiere una conexión con el sistema vascular que lleve la sangre a un sistema de doble membrana de nanotubos y retorne luego el plasma libre de impurezas a la circulación sanguínea.

seleccionará en función del tamaño, la segunda tendrá que estar diseñada de manera que permita el paso específicamente a moléculas que cumplan con determinadas características ya que, tal como hace el riñón, determinadas sales, azúcares o aminoácidos han de ser retenidos, mientras que otros productos han de eliminarse. Esto se consigue modificando los nanotubos de manera que interaccionen con unas u otras moléculas.

ENVEJECER, LA ÚLTIMA FRONTERA

La mayor parte de los enfoques actuales de la nanomedicina se centran en reparar daños y eliminar agentes patógenos. Pero ¿y si esta actuación tuviera un efecto para frenar el envejecimiento? Es evidente que el envejecimiento está relacionado, en gran parte, con la acumulación progresiva de daños en nuestros órganos, así como de una progresiva pérdida de función de las células. Aunque el proceso es mucho más complejo, la pérdida de capacidades asociada a edades avanzadas se debe en muchos casos a la pérdida de funcionalidad de las células del cuerpo. A partir de determinada edad el nivel de reposición de las células que llegan al fin de su vida disminuye y el saldo empieza a ser negativo. Donde los efectos son más evidentes es en la pérdida de masa muscular, característica de la vejez, pero el proceso tiene lugar en la mayoría de los órganos, desde el hígado hasta el cerebro. La causa final de este proceso suele estar en los cambios que experimenta el material genético, el ADN, contenido en el núcleo celular. Cada uno de los aproximadamente 30 000 genes que forman nuestro genoma es una secuencia concreta de ADN que ha de ser copiada fielmente cada vez que la célula se divide. Esto significa copiar una secuencia de tres mil millones de nucleótidos, una tarea que resulta imposible hacer sin que haya un error. En la mayoría de los casos, se trata de errores sin importancia,

pero inevitablemente algunos tendrán consecuencias en forma de mutaciones que afecten al funcionamiento de unos u otros genes. La acumulación a lo largo de los años de estos pequeños errores provoca que los sistemas de control celular pierdan eficacia. Además de los errores cometidos por la célula al copiar el ADN en el momento de dividirse, otras causas de estas «equivocaciones» son el contacto mantenido a lo largo de los años con agentes oxidantes, los productos residuales del metabolismo y la exposición a radiaciones.

También hay modificaciones que experimenta el ADN y que ya están programadas en la misma información genética. Los extremos de cada cromosoma, denominados telómeros, se van acortando hasta llegar a un tamaño que la célula puede interpretar como una señal para terminar su ciclo vital y morir sin más divisiones. Con todo ello, nuestro genoma termina por ir «envejeciendo» y las instrucciones que transmite a la célula van perdiendo eficacia, lo que se traduce en un funcionamiento deficiente del metabolismo.

Es evidente que el envejecimiento no es estrictamente una enfermedad, sino una parte del ciclo vital natural de los seres vivos. Pero no por ello ha dejado de ser objeto de atención de la medicina y, por consiguiente, también de la nanomedicina. Hay grandes esperanzas en el desarrollo de metodologías relacionadas con las células madre para ralentizar o incluso detener este proceso, pero la combinación de estas metodologías con la nanomedicina es el campo más prometedor a largo plazo.

La manera de actuar sobre el envejecimiento presenta dos estrategias claramente diferenciadas. En un caso se intentará regenerar el tejido a partir de la activación de células madre que darán lugar a nuevas células que podrán ir reemplazando las envejecidas. La segunda aproximación consistirá en mantener inicialmente las células del tejido, pero reparando completamente la información genética que contienen mediante el reemplazo de

los cromosomas del núcleo de las células. En ambos casos se requerirá la confluencia con otros campos de la ciencia en rápido desarrollo: la tecnología de las células madre y la manipulación genética.

Confluencia con células madre

Puesto que los nanobots podrían identificar marcadores tumorales o microbianos, nada impide que en un futuro se diseñen con capacidad para identificar también células que vayan perdiendo su capacidad funcional, células envejecidas o células dañadas. La clave está en determinar diferencias en proteínas presentes en la superficie de la célula que se vayan modificando a medida que esta va envejeciendo. El siguiente paso será eliminar estas células y sustituirlas por celulas madre que se diferencien en células como las eliminadas. Este proceso también puede ser llevado a cabo por nanobots transportadores que, en lugar de dispensar un fármaco, traerán las células de reemplazo. Una vez en el lugar correcto, las nuevas células retomarán sus funciones habituales, libres de los daños genéticos y metabólicos acumulados a lo largo de los años.

No todos los tejidos tienen el mismo potencial para la reparación relacionada con el envejecimiento. En muchos casos, el lugar concreto que ocupa una célula en el entramado del tejido es importante para su función, pero no determinante. Un hepatocito (el tipo de célula predominante en el hígado) puede estar en muchos lugares diferentes del hígado sin que eso afecte a sus funciones. Muy diferente es el caso del cerebro, donde la funcionalidad de las neuronas está determinada por el lugar que ocupan y, sobre todo, por las conexiones que han realizado con otras neuronas, que se cuentan por centenares y que pueden tener lugar entre células vecinas, pero también con otras neuronas muy alejadas de la primera. No parece realista, por tanto, plantearse el reemplazo de neuronas

individuales sin afectar de manera radical su red de conexiones. Afortunadamente, el cerebro ha mostrado tener una notable capacidad para restablecer los circuitos funcionales. Aún no entendemos del todo los mecanismos asociados a la plasticidad cerebral, pero en el momento en el que descifremos sus secretos y se pueda aprovechar esta función parece razonable pensar que también se podrán reemplazar las neuronas. Se trata de una cuestión decisiva, ya que de poco serviría tener un organismo en perfectas condiciones controlado por una mente senil. En este sentido, los avances que se realicen en el campo de la regeneración del tejido nervioso central a partir de hidrogeles cargados con células madre serán un ensayo del proceso, mucho más complejo, de restablecer la funcionalidad de redes neuronales en proceso de degradación.

Confluencia con la genética

De todas maneras, la opción más radical para reparar los daños asociados a la edad en el funcionamiento celular consistiría en restablecer la funcionalidad plena de sus genes. Con el tiempo, el ADN va sufriendo alteraciones que acumulan errores en el control del metabolismo. Las terapias génicas están enfocadas a reemplazar genes defectuosos por genes funcionales. Para ello se ha de identificar cuál es el gen alterado, diseñar y sintetizar una variante reparada de este gen, lo que significa generar la secuencia de nucleótidos correcta, y finalmente transportarla hasta las células correspondientes y conseguir que se introduzca en el núcleo y reemplace la función de la parte dañada. Se trata de un proceso complicado que hasta hace muy poco tenía un rendimiento decepcionantemente bajo. Las cosas cambiaron en el momento en el que se desarrolló la metodología denominada CRISPR/Cas, que permite cortar y reemplazar fragmentos de ADN con mucha mayor facilidad. Pero este no deja de ser un sistema para realizar reparaciones parciales y de

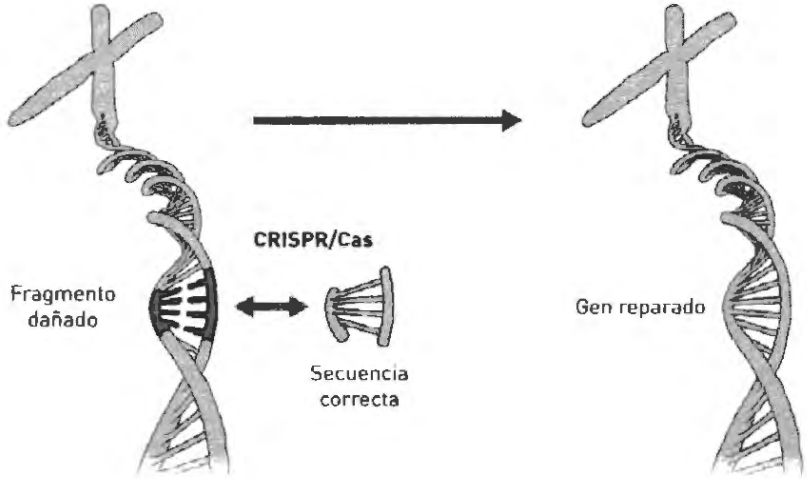
genes concretos. Será extremadamente útil para curar enfermedades genéticas, pero para luchar contra el envejecimiento de las células el nivel de actuación ha de ser mucho mayor. No se trata de cambiar uno u otro gen en actuaciones puntuales, sino de actualizar completamente el genoma entero.

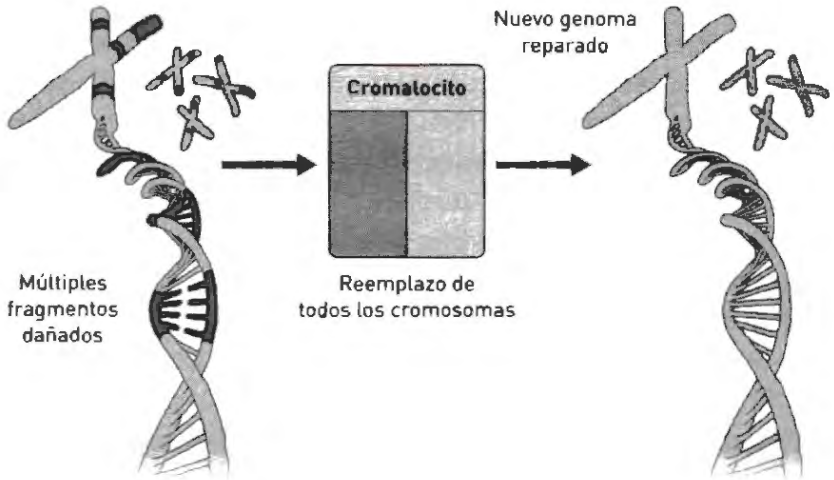
> La nanomedicina eliminará virtualmente todas las enfermedades comunes del siglo XX, el dolor y el sufrimiento médicos.
>
> ROBERT A. FREITAS JR.

Lo que se requerirá será un sistema que transporte cromosomas enteros de sustitución hasta el interior de las células. Se especula con la idea de fabricar unos nanobots particulares, bautizados con el nombre de *cromalocitos*, que actuarán de manera similar a virus, introduciéndose en el interior de las células para incorporar ADN nuevo que reemplace el dañado por el paso del tiempo. No un fragmento de ADN, sino todo el ADN celular al completo (fig. 4).

En un primer paso, el cromalocito alcanzará el núcleo de la célula y capturará el material genético, absorbiendo e introduciendo todo el ADN nuclear en una cámara diseñada a tal efecto. Una vez eliminado el material genético «viejo», el nanobot liberará unos nuevos cromosomas que se habrán sintetizado en el laboratorio copiando el material genético del paciente, pero eliminando todas las alteraciones detectadas. Una vez reemplazado el material genético, el cromalocito solo tendría que abandonar la célula para alcanzar la sangre, y desde esta, los mecanismos corporales de excreción, que lo eliminarán del cuerpo. Estos nanobots son uno de los diseños más ambiciosos de la nanomedicina y con certeza los que resultarán más complejos de llevar a la práctica. Además, para su fabricación también será necesario secuenciar previamente el genoma del paciente y sintetizar los cromosomas nuevos que habrán de incorporarse al hipotético cromalocito. Por otra parte, el tratamiento requerirá la participación de billones de estas partículas, ya que no bastará con actuar sobre un número

Fig. 4





Para revertir el envejecimiento se especula con disponer de nanorrobots (cromalocitos) que se unan al núcleo de la célula, absorban los cromosomas «envejecidos» y los reemplacen por otros libres de los errores causados por el paso del tiempo.

reducido de células. Cada una de esas partículas necesitará modular el funcionamiento de la célula, deteniendo parte de su metabolismo mientras dure la sustitución del ADN y restableciendo el funcionamiento normal a continuación. Esto obligará al cromalocito a transportar agentes moduladores del metabolismo celular y a liberarlos en los momentos oportunos, teniendo en cuenta, además, que no todas las células del organismo se regulan de la misma manera.

Aunque el concepto es sencillo, los obstáculos técnicos son enormes, pero cuando se consiga superarlos se podrá regular el nivel de funcionamiento celular restableciendo su actividad a niveles óptimos, una situación que actualmente solo se alcanza durante los años de juventud.

MÁS ALLÁ DEL SUEÑO DE FEYNMAN

Aun sin llegar a esa frontera final de la medicina que es la abolición del envejecimiento, la nanomedicina presentaría una precisión y una eficiencia inigualables. Ningún cirujano equipado con ningún bisturí podrá siquiera acercarse a la precisión que podrá conseguir un nanobot de tamaño molecular. Ningún fármaco antitumoral ofrecerá mejor rendimiento que aquel que sea transportado específicamente al interior del tumor de manera que ejerza su efecto citotóxico únicamente allí.

Disponer de herramientas moleculares abre la puerta a luchar contra las enfermedades al mismo nivel en el que se producen, a la escala celular y molecular. Hoy en día empezamos a entrever las posibilidades de la nanomedicina y el sentimiento que nos despierta oscila entre la incredulidad y el vértigo. En otras ocasiones a lo largo de la historia han tenido lugar avances que marcaron un antes y un después, pero normalmente eran avances en campos determinados; trasplantes, antibióticos, anestesia, genómi-

ca... En esta ocasión, en cambio, estamos asistiendo a un avance que afectará a todos los campos de la medicina con potencial para transformar prácticamente todas sus especialidades. El arte de curar, que empezó hace milenios identificando aquellas plantas que presentaban propiedades terapéuticas, está a punto de alcanzar un nuevo nivel. Un nivel en el que aquellos cirujanos moleculares que imaginó Feynman ya formarán parte de nuestras vidas y en el que las posibilidades de abordar la curación de las enfermedades parecen ilimitadas.

LECTURAS RECOMENDADAS

Arnaldi, S., Delgado, J. C., Piccini, M., y Poletti, P., *Nanomedicina. Entre políticas públicas y necesidades privadas*, Ciudad de México, Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades de México, 2011.

Martín-Gago, J.A., Briones, C., Casero, E. y Serena, P. A., *El nanomundo en tus manos*, Barcelona, Crítica, 2014.

Poole, C. P. y Owens, F. J., *Introducción a la nanotecnología*, Barcelona, Reverté, 2007.

Santamaría, J., *Nanomedicina: una visión desde el diseño de nuevos materiales*, Zaragoza, Prensas Universitarias de Zaragoza, 2015.

Serena, P. A., *La nanotecnología*, Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2010.

Shelley, T., *Nanotecnología: nuevas promesas, nuevos peligros*, Vilassar de Dalt, El Viejo Topo, 2010.

ÍNDICE

ADN 10, 15-16, 34-35, 42, 72-75, 77, 86-87, 126-127, 129-132
antibiótico 42-44, 76, 78, 92, 105-106, 122, 132
anticuerpo 30, 34, 57-58, 64, 66, 76, 78
arterioesclerosis 53
axón 97-98, 100

bacterias 23, 30, 42-44, 76, 78-80, 96, 120, 122
barrera hematoencefálica 101-103
biocompatibilidad 39, 53, 91, 100-101

cáncer 9, 15, 17, 31-32, 39, 54-56, 62-67, 69, 88, 118
capilares sanguíneos 65, 67, 102, 112, 120
cartílago 90-92, 94-96
células madre 84-92, 94-96, 100-101, 105-107, 127-129
cerebro 97, 100-103, 126, 128-129
clotocito 115, 116-117, 121
colágeno 90, 92, 96, 98, 104, 106, 119
colesterol 45, 53, 119
contraste 48, 50-56
copolímeros 91
cromalocito 130-132

dendrímero 30-32, 78-80
diabetes 35, 45, 49, 72
diagnóstico 9, 30, 36-40, 42, 44, 48, 53, 55-56, 58-59, 67, 111, 118

diálisis 123-124
doxorrubicina 63

electrospinning 91, 93

factores de crecimiento 92, 98-101, 103-104, 106
fenestraciones 65, 102
Feynman, Richard 8, 17-21, 111, 115, 132-133
fibroblastos 104
fibrosis quística 72, 76, 112
fluorescencia 57
Freitas Jr., Robert A. 112-116, 120, 130

ganglio 54-55
gen 8, 10, 13, 15, 17, 30, 34, 39, 72-77, 85, 87, 89, 126-131
genómica 10, 111, 133
glicosaminoglicanos 94-95
glomérulo 36
glucosa 16, 45-47, 49, 70-71, 113-114, 120
glucosa oxidasa 70-71
Google 49
grafeno 29, 33-34, 124
Gurdon, John 86-87, 89

hidrogel 46-47, 99-101, 105, 107, 129
hidrosoluble 62
hidroxiapatita 90-91
hipertermia magnética 67-68
hueso 34, 48, 50-51, 55, 83, 88, 90-95, 98, 104

insulina 35, 45, 48, 69-72

laboratorio en un chip 40-42, 44
lentillas 45-47, 49
liposoluble 63
liposoma 30-31, 62-67, 102-103

matriz 40, 42, 46, 90-96, 104, 106-107, 125
membrana 10, 30-31, 36, 62-63, 73, 75, 88, 123-125
micela 30-31, 62-65, 67
microbívoro 115, 120-122
microglía 100
microscopio 20-21, 23, 58
de efecto túnel 21
morfina 15-16, 105
mucopolisacáridos 73

nanobot 11, 27-28, 113, 115-119, 122, 128, 130-132
nanocontenedor 64-67, 92, 94, 101-103, 106, 111, 115
nanofibras 70-71, 91, 93, 106
nanomateriales 11, 27, 29, 35
nanómetro 23-24, 28-29, 117
nanopartícula 29-30, 39, 48, 51-57, 63, 67-71, 91, 95-96, 104-105

nanotecnología 7, 9-10, 13, 18-20, 22-23, 39-40, 51, 58, 63, 74, 88, 107, 115, 118, 123-124
nanotubos de carbono 10, 33-35, 74-77, 91, 105, 123-126
nanovesículas 65
neurogénesis 96
neuronas 85, 96-103, 128-129
NONOatos 79-80
núcleo 10, 26, 31-32, 50, 73, 86-87, 126, 128-131

osteoblastos 90-91
osteocitos 90
osteoclastos 88, 90-91
óxido de hierro 52, 55, 67-68
óxido nítrico 79-80

paclitaxel 63
piel 28, 31, 83, 86-89, 91, 97, 103-107
placa de ateroma 53
polietilenglicol 58, 66
polímero 30, 42, 53, 58, 66, 70-71, 91, 93-95, 98, 105, 107, 125
punto cuántico 35, 56-58

queratinocitos 104-106

radiografía 48, 50, 53, 55
regeneración 9, 11, 34, 81-83, 85-86, 88, 92-97, 103-107, 111, 129
resazurina 43-44
resonancia magnética 48, 50-53, 55-56
respirocito 112-117

sistema inmunitario 8, 11-12, 54, 57, 64, 66-67, 74, 76, 79, 86, 97, 100, 112, 115, 117, 120-122
sistema nervioso 96-98, 100-101, 103

tomografía computarizada 50
tumor 9-10, 13-17, 32-33, 35, 45, 50-52, 54-58, 62-69, 128, 132

vectorización 64
virus 73-75, 78-79, 87, 130

Yamanaka, Shinya 87, 89